

Aus dem Charité-Centrum für chirurgische Medizin
Klinik für Allgemein-, Viszeral und Transplantationschirurgie
Direktor: Prof. Dr. med. Peter Neuhaus

Habilitationsschrift

Genetische Modulatoren der Hepatitis-C-Rekurrenz nach Lebertransplantation

Zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach

Chirurgie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin
von
Dr. med. Dennis Eurich
geboren am 23.06.1977 in Alma Ata

Eingereicht: Januar 2014
Dekanin: Univ.-Prof. Dr. med. Annette Grüters-Kieslich
1. Gutachter: Prof. Dr. med. Christian P. Strassburg / Bonn
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Hauke Lang / Mainz
Datum des öffentlich wissenschaftlichen Vortrags: 23.06.2014

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	3
1. Einleitung	4
1.1. Hepatitis-C-Infektion	4
1.2. Hepatitis-C-Reinfektion nach Lebertransplantation	5
1.2.1. HCV-assoziierte Transplantatfibrose	5
1.2.2. Pathogenese der Fibrose	6
1.2.3. Antivirale Therapie	7
1.2.4. Risikofaktoren für Fibroseprogression	8
1.2.4.1. Spenderassoziierte Faktoren	8
1.2.4.2. Virale Faktoren	8
1.2.4.3. Immunsuppressive Therapie und Rejektion	9
1.2.4.4. Empfänger-assoziierte Risikofaktoren	10
2. Eigene Arbeiten	11
2.1. Genetische Faktoren und die Entwicklung der Transplantatfibrose (P1-6)	12
2.2. Genetische Prädiktoren für den Erfolg der antiviralen Therapie (P4-5)	65
2.3. Alternative antivirale Therapie (P7)	66
2.4. Genetische Determinanten der akuten zellulären Rejektion (P3, 8)	73
2.5. Genetische Faktoren und das hepatozelluläre Karzinom (P5, 9)	82
2.6. Genetische Modulatoren der Nierenfunktion (P10)	90
3. Diskussion	97
3.1. HCV-Induziertes hepatozelluläres Karzinom	97
3.2. Akute zelluläre Rejektion	99
3.3. HCV-assoziierte Transplantatfibrose	100
3.4. Risikofaktoren für Fibroseprogression	102
3.5. Prädiktoren des antiviralen Therapieerfolgs	104
3.6. Alternative antivirale Therapieansätze	105
4. Zusammenfassung	106
5. Literaturangaben	107
6. Danksagung	119
7. Erklärung	120

Abkürzungsverzeichnis

ACR	akute zelluläre Rejektion
AFP	α -Fetoprotein
C	Cytosin
CMV	Cytomegalievirus
CNI	Calcineurininhibitor
CyA	Cyclosporin-A
ECM	extrazelluläre Matrix
G	Guanin
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
F	Fibrosestadium
HCC	hepatozelluläres Karzinom
HCV	Hepatitis-C-Virus
HSC	hepatische Sternzelle
IFN	Interferon
IL	Interleukin
LTX	Lebertransplantation
MBL-2	Mannose-Bindendes-Lektin-2
P	Publikation
PEG-IFN	pegyliertes Interferon
RBV	Ribavirin
STAT-4	Signal Transducer and Activator-4
T	Thymin
TGF- β 1	transformierender Wachstumsfaktor- β 1

1. Einleitung

1.1. Hepatitis-C-Infektion

Hepatitis-C-Infektionen stellen global ein gravierendes Gesundheitsproblem dar. Weltweit sind ca. 200 Millionen mit dem Hepatitis-C-Virus (HCV) infiziert, wobei jährlich etwa 350000 Menschen an den Folgen der Infektion versterben und somit die Größenordnung der HIV-assoziierten Mortalität erreichen [1, 2].

Das Hepatitis-C-Virus ist ein RNA-Virus mit derzeit 6 bekannten Genotypen und gehört zu der Familie der Flaviviren. Die Virusübertragung erfolgt durch einen direkten Kontakt mit Blut und verursacht nach einer etwa 2 Monate andauernden Inkubationsperiode eine unterschiedlich ausgeprägte Leberentzündung, wobei ein fulminantes Leberversagen sehr selten (<1%), eine spontane Viruselimination in etwa 30% und eine chronische Verlaufsform in 70% beobachtet werden. Der zytopathogene Effekt entspricht dem Bild einer Inflammation mit Infiltration von zytotoxischen T-Lymphozyten als Antwort auf das virale Antigen mit konsekutivem Untergang der Hepatozyten [3]. Bei unterschiedlicher Ausprägung der chronischen Hepatitis-C entsteht eine Leberzirrhose bei etwa 30% der Patienten nach 20 und bei weiteren 30% nach 50 Infektionsjahren. Die jährliche Inzidenz eines primären Leberzellkarzinoms in einer zirrhotischen Leber auf dem Boden einer chronischen HCV-Infektion beträgt bis zu 5% [4]. Der insgesamt langsame Verlauf der Erkrankung und die Progression zur Leberzirrhose hängen von der Infektionsdauer, von individuellen genetischen Faktoren und vom viralen Genotyp ab, wobei der Genotyp 1b die hartnäckigste und am schwierigsten zu behandelnde Variante darstellt. Der Schweregrad der Lebererkrankung einschließlich der Kanzerogenese unterliegt der genetischen Kontrolle [5-9]. In etwa 50% kann eine chronische Hepatitis-C-Infektion mit Hilfe von pegyliertem Interferon (PEG-IFN) und Ribavirin (RBV) definitiv geheilt werden. Noch höhere Raten einer dauerhaften Viruselimination (ca. 70%) können durch eine Kombinationstherapie mit sog. Proteaseinhibitoren erreicht werden [10].

Oft kann die Progression der Erkrankung mit konservativen Behandlungsstrategien nicht aufgehalten werden, so dass bei Erreichen einer wesentlichen Leberfunktionseinschränkung oder der Entwicklung eines Leberzellkarzinoms in frühen Stadien die Indikation zur Lebertransplantation erfolgen kann.

Dank erfolgreicher Entwicklung der Transplantationsmedizin in den vergangenen Jahrzehnten stellt die Lebertransplantation heutzutage ein etabliertes Verfahren für die definitive Therapie des Endstadiums einer chronischen Lebererkrankung dar. Die HCV-assoziierte Leberzirrhose und das HCV-assoziierte HCC bei Patienten mit einer deutlich reduzierten Lebenserwartung sind die Hauptindikationen für die Durchführung von Lebertransplantationen in Europa [11, 12].

1.2. Hepatitis-C-Reinfektion nach Lebertransplantation

Hepatitis-C-Viren persistieren im Serum und im lymphatischen Gewebe im Sinne eines extrahepatischen Reservoirs. Dies führt zu einer nahezu 100%-igen Reinfektion der Leber nach der Transplantation. Aufgrund fehlender Rezidivprophylaxe ist die HCV-Reinfektion aktuell ein unvermeidbares Phänomen. Unter den bekannten HCV-Genotypen dominiert hierbei als Selektionsfolge der widerstandsfähigste HCV-Genotyp 1b [13]. Die Virämie zum Zeitpunkt der Transplantation ist niedrig bzw. kaum nachweisbar und wird bereits in den ersten Wochen messbar. Im weiteren Verlauf erhöht sich die HCV-Konzentration im Serum auf Werte, welche aufgrund der eingesetzten Immunsuppression eine Logarithmusstufe höher liegen als vor der Transplantation [14]. Die antivirale Abwehr erfolgt durch eine präzise Interaktion verschiedener T-Zellpopulationen. Im Vergleich zum natürlichen Verlauf der HCV-Infektion, ist das Gleichgewicht zwischen morphologisch und funktionell verschiedenen CD8- und CD4-positiven T-Lymphozyten aufgrund der Immunsuppression zugunsten einer abgeschwächten und verlangsamten Effektoraktivität und einer ebenfalls unterdrückten Reaktion von T-Helferzellen verschoben, wodurch die virale Abwehr insgesamt weniger effektiv ist und die HCV-Persistenz begünstigt wird. Eine lebhaftere CD4-Lymphozytenaktivität dagegen sorgt für eine mildere Form der Transplantathepatitis [15, 16]. Die HCV-Rekurrenz als Reinfektionsfolge beinhaltet das gesamte Ausprägungsspektrum der HCV-induzierten Transplantaterkrankung, angefangen von asymptomatischer Infektion, über Transplantatinfektion bis hin zur Ausbildung einer Transplantatzirrhose. Die HCV-Rekurrenz geht mit einer schlechteren Transplantatüberlebensrate einher [17]. Das Gesamtüberleben der transplantierten Patienten mit HCV-Rekurrenz ist im Vergleich zu HCV-negativen Patienten signifikant erniedrigt [11].

1.2.1. HCV-assoziierte Transplantatfibrose

Im Vergleich zum natürlichen Verlauf der HCV-Infektion ist die rekurrente Hepatitis-C-Infektion schwerwiegender in ihrer Ausprägung, und die Progression zu einem erneuten Endstadium der Lebererkrankung ist signifikant beschleunigt [17-20].

Nach der Reinfektion zeigen sich bei den meisten Patienten laborchemische Auffälligkeiten der Transaminasen oder histologische Zeichen einer Inflammation und in einem sehr variablen Ausmaß auch eine Fibrosebildung. Bis zu 30% der lebertransplantierten Patienten entwickeln innerhalb der ersten 5 Jahre und bis zu 50% der Patienten im Zeitraum von 10 Jahren nach Transplantation eine HCV-induzierte Transplantatzirrhose [19].

Neben klinischen und laborchemischen Parametern der Synthese- und Exkretionsleistung (Bilirubin, Albumin und Gerinnung) spielt die Leberbiopsie eine wichtige Rolle. Die histologische Untersuchung des Transplantates liefert eine zuverlässige Aussage über den HCV-assoziierten Leberschaden und repräsentiert somit den diagnostischen Goldstandard [14].

Das Endstadium der Transplantaterkrankung entspricht histologisch dem Bild einer Leberzirrhose, die als Ergebnis einer chronischen Inflammation und einem daraus resultierenden Ersatz des funktionsfähigen Leberparenchyms durch kollagenreiches Bindegewebe entsteht [4, 21, 22]. Das klinische Bild des Transplantatfunktionsverlustes ähnelt dem natürlichen Verlauf der HCV-induzierten Leberdekomensation. Aszitesbildung, Ösophagusvarizen, Enzephalopathie und Ikterus sind häufige Erscheinungen der Transplantatdekomensation. Ein progressiver und irreversibler Verlust der Transplantatfunktion trotz antiviraler Therapie führt zu einem progressiven Transplantatversagen und kann in vielen Fällen die Indikation zu einer erneuten Lebertransplantation erfordern [23].

1.2.2. Pathogenese der Fibrose

Die Entwicklung einer Fibrose bestimmt die Morbidität und Mortalität der Patienten mit chronischer HCV-Infektion. Die Fibrose ist dabei das Ergebnis einer exzessiven Bildung der extrazellulären Matrix (ECM). Diese besteht aus Kollagenen, nicht kollagenen Glykoproteinen, Proteoglykanen und Glykosaminoglykanen. Wachstumsfaktoren, Zytokine, Matrixproteinasen und ihre Gewebeinhibitoren vermitteln wichtige Zellinteraktionen und modulieren die Zusammensetzung der ECM [24]. Eine zentrale Rolle in der Entstehung der Leberfibrose wird hierbei der hepatischen Sternzelle (HSC) zugesprochen, da diese den ECM-Hauptsyntheseort darstellt. Ruhende Sternzellen können unter Noxeneinfluss aktiviert werden und einen proliferativen, myofibroblastenähnlichen Phänotyp annehmen, der vermehrt ECM-Komponenten synthetisiert und im Interstitium abgelagert [25-28]. Bei einer chronischen Inflammation akkumulieren Kollagene Typ I und III nicht nur als Folge einer erhöhten Matrixsynthese, sondern als Folge ihrer verminderten Degradation und bilden ein Narbengewebe [4, 24]. Die Dynamik der Fibrogenese und der Fibrolyse über Jahre hinweg bestimmt die Ausprägung der Leberfibrose [4, 29].

Die Entwicklung der HCV-assoziierten Transplantatfibrose ist nicht linear und höchst individuell, weshalb eine serielle histologische Erfassung der Fibrose von größter Bedeutung ist, um das Progressionsausmaß der Erkrankung exakt einstuft zu können [14, 30, 31]. Unter vorhandenen histologischen Fibrose-Scores erscheint die

semiquantitative Beschreibung der Fibrose nach Desmet & Scheuer hinsichtlich der Reproduzierbarkeit am zuverlässigsten [30, 32, 33].

1.2.3. Antivirale Therapie

Die Indikationsstellung zur antiviralen Therapie bei HCV-Rekurrenz erfolgt anhand individueller klinischer, laborchemischer und histologischer Kondition der Transplantatleber nach Erlangen einer stabilen Situation nach Transplantation meist innerhalb der ersten sechs Monate [34]. Analog zum natürlichen Verlauf der HCV-Infektion basiert die Therapie auf der Verabreichung von pegyliertem Interferon-a2a (PEG-IFN-a2a) und Ribavirin (RBV) für 12-18 Monate. Interferone sind natürlich vorkommende Proteine mit antiviralen, antiproliferativen und immunomodulatorischen Eigenschaften. Diese sind imstande, die intrazelluläre RNA abzubauen und die RNA-Translation zu inhibieren. Unter den bekannten Interferonen (IFN-a, IFN-b, Peg-IFN-a2b) besitzt Peg-IFN-a2a die stärkste antivirale Potenz und zeigt bessere Therapieerfolgsraten bei Patienten mit HCV-Reinfektion als andere Interferone [35-38]. RBV hemmt die Inosinmonophosphatdehydrogenase und reduziert die intrazelluläre Konzentration von Guanosin. Die Substanzkombination aus IFN und RBV verstärkt gegenseitig ihre antivirale Potenz, zeigt jedoch nicht unerhebliche Nebenwirkungen. Hämatologische und psychiatrische Komplikationen behindern häufig einen uneingeschränkten Einsatz dieser antiviralen Medikamente [39]. Die Behandlung der HCV-Reinfektion mit pegyliertem Interferon und Ribavirin führt zur HCV-Elimination in etwa 30-40% und übt einen positiven Effekt auf die Fibroseprogression auch bei erfolgloser antiviraler Therapie aus [40, 41]. Bei manchen Patienten schreitet jedoch die Fibroseentwicklung trotz erfolgreicher antiviraler Therapie fort [41]. Der kürzlich eingeführte Therapiestandard für nicht transplantierte Patienten mit HCV-Infektion, der aus Proteaseinhibitoren (Telaprevir oder Boceprevir) und IFN-RBV-Basis besteht, ist vielversprechend, kann jedoch aktuell für die Behandlung der HCV-Rekurrenz aufgrund von Interaktionen mit der immunsuppressiven Medikation und teilweise schweren Nebenwirkungen nicht ohne Weiteres empfohlen werden [42, 43].

Neben den negativ wirkenden Faktoren wie zu hohe Immunsuppression, mit Kortikosteroiden behandelte akute zelluläre Rejektion und HCV-Genotyp-1b, werden in diesem Kontext wiederum genetische Determinanten vermutet, die den antiviralen Therapieerfolg beeinflussen, diesen individuell ermöglichen oder verbieten [34, 44]. Die Identifikation von prädiktiven Faktoren für den antiviralen Therapieerfolg sollte daher von oberster Priorität sein, um einen Einsatz von nebenwirkungsreichen antiviralen Substanzen auf diejenigen Patienten zu konzentrieren, die davon i.S. eines nachhaltigen Therapieerfolgs profitieren können. Darüber hinaus erfordert die

Tatsache, dass etwa 60-70% der Patienten mit HCV-Rekurrenz erfolglos antiviral behandelt werden, eine weitere Suche nach alternativen antiviralen Substanzen, um die Gesamterfolgsrate und die Überlebensrate zu verbessern.

1.2.4. Risikofaktoren für Fibroseprogression

Die Progression der HCV-assoziierten Transplantaterkrankung ist individuell variabel und wird durch zahlreiche virale, immunologische, donor- sowie rezipientenspezifische Faktoren beeinflusst. Diese befinden sich bereits seit einigen Jahren im Zentrum der Aufmerksamkeit [14, 45]. Darüber hinaus nehmen die Hinweise zu, dass genetische Variationen von Enzymsystemen, Zytokinen und Wachstumsfaktoren, sogenannten Polymorphismen, eine wichtige Rolle in der Entwicklung von pathologischen Prozessen spielen und deshalb die individuellen Unterschiede im Auftreten und Verlauf der Fibrose erklären können. Der Begriff „Genpolymorphismus“ beinhaltet natürlich vorkommende Nukleotidsequenzvarianten eines Genlokus, die sich auf die Aminosäuresequenz, Proteinmenge und die Funktion des Genprodukts auswirken und somit den Phänotyp beeinflussen können [46].

1.2.4.1. Spenderassoziierte Faktoren

In zahlreichen Studien wurde ein negativer Einfluss des Spenderalters, des Fett- und Eisengehalts der Spenderleber auf die Entwicklung der Transplantatfibrose nachgewiesen [47-49]. Die Dauer der warmen und kalten Ischämie wirkt sich ebenfalls negativ auf die Fibroseprogression aus [14]. Die eisenionenvermittelte Lipidperoxidation, die durch den oxidativen Stress entsteht und eine wichtige Rolle in der häpatozellulären Schädigung spielt, erklärt den negativen Effekt von höherem Eisen- und Fettgehalt der Leber auf die Fibrosegenese [50]. Analog zum natürlichen Verlauf der HCV-Erkrankung korreliert ein höheres Organalter zum Zeitpunkt der HCV-Infektion mit beschleunigter Fibrosebildung, obwohl der genaue Mechanismus noch nicht vollständig geklärt ist [48]. Darüber hinaus können die Donorpolymorphismen im Transplantat die antivirale Abwehr beeinflussen und somit in der Fibrogenese von Bedeutung sein [42].

1.2.4.2. Virale Faktoren

Der Einfluss von viralen Eigenschaften auf die Fibroseentwicklung wurde in mehreren Studien geprüft. Die Fibroseprogression bei Patienten mit HCV-Genotyp 1b und einem hohen Viruslastanstieg unmittelbar nach Lebertransplantation ist im Vergleich zu anderen HCV-Genotypen beschleunigt [45, 49, 51, 52]. Außerdem kann eine CMV-

Koinfektion die Entwicklung der HCV-assoziierten Transplantatfibrose signifikant verstärken [51, 53].

1.2.4.3. Immunsuppressive Therapie und Rejektion

Die Immunsuppression setzt sich aus Calcineurininhibitoren (CNI: Cyclosporin-A oder Tacrolimus), Kortikosteroiden, Mycophenolat-Mofetil (MMF) und ggf. aus einem IL-2-Rezeptorantikörper als Induktionstherapie zusammen.

CNIs hemmen die Aktivierung der T-Zellen. Cyclosporin-A (CyA), gebunden an das zytosolische Protein Cyclophilin, verhindert eine calcineurinabhängige Aktivierung des IL-2-Gens über die Blockade einer wichtigen Dephosphorylierung am „Nuclear factor of activated T-cells“, so dass die Proliferation von zytotoxischen Lymphozyten ausbleibt. Über den Cyclophilinweg hemmt CyA darüber hinaus die HCV-Polymerase und zeigt somit antivirale Eigenschaften [54]. Tacrolimus dagegen benötigt für die Calcineurinblockade zytosolisch vorliegendes FK-bindendes Protein und besitzt im Vergleich zu CyA kein antivirales Potential. Insgesamt handelt es sich bei CNIs um potente Substanzen in der Rejektionsprophylaxe und Rejektionsbehandlung nach Lebertransplantation [55-57].

Der Inosinmonophosphatdehydrogenaseinhibitor MMF blockiert die Neubildung von Guanin, das für die DNA-Synthese wichtig ist, und führt somit zur Proliferationshemmung von Lymphozyten. MMF besitzt immunsuppressive und antivirale Eigenschaften zugleich und wird als Ergänzung zu den CNI mit dem Ziel der CNI-Spiegelreduktion eingesetzt [56].

Der mTOR-Inhibitor Sirolimus hemmt die IL-2-abhängige Proliferation. Als potenter Immunomodulator ist Sirolimus zusätzlich in der Lage, die Fibrogenese zu reduzieren und möglicherweise die Fibroseprogression bei HCV-positiven Patienten zu verlangsamen [58, 59].

Glukokortikoide werden zur Induktion und zur Rejektionsbehandlung eingesetzt. Durch die Inhibition der Gentranskription von verschiedenen Interleukinen in den Makrophagen und in T-Zellen hemmen diese die T-Zellproliferation. Der Einsatz von Glukokortikoiden führt bei HCV-Patienten jedoch zu einem deutlichen Anstieg der Virämie und zur Verschlechterung des histologischen Bildes im reinfizierten Lebertransplantat [60].

Durch den Einsatz der Immunsuppression stellt sich bei Patienten mit HCV-Rekurrenz ein empfindliches Gleichgewicht zwischen der Rejektionsprophylaxe einerseits und Provokation einer stärkeren HCV-Reinfektion andererseits ein. Sowohl bei der akuten zellulären Rejektion (ACR) als auch bei der HCV-Infektion werden CD4- und CD8-positive Lymphozyten rekrutiert. Das histologische Bild wird von mononuklearen

Infiltraten und einer Endothelialitis geprägt [61]. Die Rejektionsbehandlung durch den Einsatz von Kortikosteroiden wirkt sich negativ auf den Inflamationsgrad und die Fibroseprogression aus [23]. Oft ist das histologische Bild einer ACR von einer HCV-Reinfektion nicht zu unterscheiden [61]. Deshalb ist es von großer Bedeutung, diagnostische Marker zur Unterscheidung beider Prozesse zu entwickeln, um den falschen Einsatz von Glukokortikoiden zu vermeiden. Eine ACR hat zumindest teilweise eine endogene, genetisch determinierte Ursache, so dass Mutationen der in der Inflammation und Immunomodulation beteiligten Gene hierfür verantwortlich gemacht werden. Der Sachverhalt ist jedoch noch im Wesentlichen unklar [62-64].

1.2.4.4. Empfängerassoziierte Risikofaktoren

Ein sich während der chronischen HCV-Infektion etablierendes Ungleichgewicht zwischen der Synthese und dem Abbau der extrazellulären Matrix wird durch Zytokine als Botenstoffe der zellulären Kommunikation am Ort der chronischen Inflammation gesteuert. Diese Interaktion bestimmt individuell das Ausmaß der Fibrose als Ergebnis der Auseinandersetzung mit dem infektiösen Agens. Aktivierte Makrophagen, Lymphozyten, Gallengangepithelien, Endothelzellen und Myofibroblasten sind Quellen von fibrogenen Zytokinen und Wachstumsfaktoren, die die hepatische Sternzelle zur Synthese von ECM-Molekülen anregen können [4, 24, 26]. Genetische Polymorphismen als Variationen können die individuell unterschiedliche Neigung zur Fibroseprogression erklären, da das Ausmaß der Zytokinproduktion als Antwort auf ein schädigendes Agens offensichtlich der genetischen Kontrolle unterliegt [5, 65, 66]. Dieser Aspekt gewinnt zunehmend an Bedeutung und zieht verstärkt wissenschaftliches Interesse dahingehend auf sich, inwieweit der individuelle Hintergrund die akute zelluläre Rejektion, die Rekurrenz der Grunderkrankung und die Entwicklung der Lebertransplantatfibrose beeinflussen kann [67-69]. Genetische Faktoren scheinen durchaus mehr Prozesse als bislang vermutet zu beeinflussen. Der Einsatz von CNIs als Grundbaustein der Immunsuppression führt aufgrund der bekannten Nephrotoxizität in einem beträchtlichen Teil der Patienten, aber nicht bei allen, zur Entwicklung einer chronischen transplant-assoziierten Nierenerkrankung über die tubuläre Atrophie und interstitielle Fibrose der Niere [70-72]. Aufgrund von individuell unterschiedlicher Tendenz zur Krankheitsentwicklung werden auch in diesem Kontext Polymorphismen profibrogener Gene als endogene Ursache vermutet.

2. Eigene Arbeiten

Bei zunehmender Evidenz für das Vorhandensein von nicht beeinflussbaren Determinanten mehrerer Phänomene vor und nach der Lebertransplantation wurden innerhalb gut charakterisierter Kollektive Kandidatengene für die wichtigsten pathologischen Prozesse identifiziert und in ihrer Variation bestimmt. Im Zentrum der eigenen Untersuchungen stand die Suche nach genetischen Risikofaktoren des Empfängers für das höhere Ausmaß der Inflammation und somit für die schnelle Entwicklung der HCV-induzierten Transplantatfibrose anhand zuverlässiger histologischer Daten aus dem Nachsorgeprotokoll der lebertransplantierten Patienten. Darüber hinaus wurden genetische Prädiktoren für den Erfolg der interferonbasierten antiviralen Therapie untersucht. Nicht minder wichtig erschien hierbei die Rolle der genetischen Faktoren in der Entwicklung der akuten zellulären Rejektion in der Frühphase nach Lebertransplantation. Ferner wurde die Entwicklung der Niereninsuffizienz im Hinblick auf die genetische Ausstattung des Empfängers untersucht. Mit Hilfe von detaillierter Tumorbeschreibung aus explantierten Lebern wurden Genvarianten auch im Hinblick auf die HCV-induzierte Karzinogenese untersucht. Nicht zuletzt galt unsere Aufmerksamkeit alternativen Therapieoptionen für die HCV-Reinfektionshepatitis nach der Transplantation.

2.1. Genetische Faktoren und die Entwicklung der Transplantatfibrose

Die chronische Auseinandersetzung mit dem Hepatitis-C-Virus ruft eine Organinflammation hervor, die auf klinischer, laborchemischer und histologischer Ebene in Erscheinung tritt und über individuell unterschiedliche Zeit zur Akkumulation der Kollagene und somit zur Ausbildung einer Transplantatfibrose führen kann.

Anhand laborchemischer und histologischer Daten, die in unserem Patientenkollektiv longitudinal und entsprechend dem klinikinternen Nachsorgeprotokoll erhoben wurden, untersuchte unsere Arbeitsgruppe die Rolle von unterschiedlichen Genmutationen prominenter Zytokine in der Entwicklung der HCV-assoziierten Transplantatinfektion und -fibrose.

Der transformierende Wachstumsfaktor- β 1 (TGF- β 1) ist eines der fibrogenen Zytokine, dem eine bedeutende Rolle in der Stimulation der Matrixsynthese zugesprochen wird. Bedingt durch einen Genpolymorphismus kann TGF- β 1 das Ausmaß der Aktivierung der hepatischen Sternzellen verändern und somit zu individuell unterschiedlicher Ausprägung der Produktion der extrazellulären Matrix führen. So konnte eine signifikante Assoziation des G-Allels am Codon 25 mit verstärkter HCV-assoziiierter Fibrogenese in unserem Kollektiv demonstriert werden. Die Mutation am Codon 10 spielte in diesem Zusammenhang jedoch keine Rolle.

P1: „*Transforming growth factor β 1 polymorphisms and progression of graft fibrosis after liver transplantation for hepatitis C virus-induced liver disease*“ Eurich D, Bahra M, Boas-Knoop S, Lock JF, Golembus J, Neuhaus R, Neuhaus P, Neumann UP. *Liver Transpl.* 2011 Mar;17(3):279-88. doi: 10.1097/TP.0b013e318242be0b.

Die Leberfibrose ist eine polygene Erkrankung, deren Entwicklung durch zahlreiche exogene und endogene Faktoren beeinflusst wird. Die IL-12 vermittelte Aktivierung von STAT-4, einem Protein aus der Jac-STAT-Signalkaskade, reguliert Inflammation, Fibrogenese und antivirale Abwehr [73-76]. So führt eine Unterbrechung des sich auf dem Chromosom 2 befindenden STAT-4-Gens im Tiermodell zur Reduktion der Inflammation und verlangsamt somit die Fibroseentwicklung [77]. Aufgrund der Annahme, dass eine bekannte Mutation des STAT-4-Gens (rs7574865) von Guanin nach Thymin zu Veränderungen im Phänotyp führt, wurde diese im Kontext der HCV-Rekurrenz überprüft. So konnte ein signifikant höherer Anteil des Thyminallels des STAT-4-Polymorphismus bei Patienten mit fortgeschrittener Transplantatfibrose gezeigt werden. Ferner erreichten Patienten mit Guaninallel deutlich langsamer fortgeschrittene Stadien der histologisch gesicherten Leberfibrose. Somit spielt das G-Allel eine protektive Rolle in der Entstehung der HCV-assoziierten Transplantatfibrose. Entgegen der vermuteten Beteiligung des STAT-4-Polymorphismus an der akuten Rejektion und an der Entwicklung eines hepatozellulären Karzinoms, konnte hier keine Assoziation gezeigt werden. Ebenfalls eine untergeordnete Rolle spielt dieser Polymorphismus in der Ansprechrate auf eine antivirale Therapie. Als Risikofaktoren für die Fibroseprogression konnten in dieser Arbeit der HCV-Genotyp-1b, die erfolglose antivirale Therapie sowie ein höheres Alter bestätigt und STAT-4-T-Allel identifiziert werden.

P2: *“Genetic variants of STAT-4 affect the development of graft fibrosis after liver transplantation for HCV-induced liver disease”* Eurich D, Boas-Knoop S, Struecker B, Neuhaus R, Neuhaus P, Bahra M. *Transplantation*. 2013 Jan 15;95(1):203-8.
doi: 10.1097/TP.0b013e318277e2f6.

Ein weiteres Protein, das sich an der Degradation der extrazellulären Matrix beteiligt und somit die Fibroseentwicklung beeinflusst, ist das YKL-40 oder das chitinase-3-ähnliche Protein-1. Seine Wirkung ist derzeit nicht vollständig geklärt, es konnte jedoch gezeigt werden, dass der YKL-40-Spiegel den antiviralen Therapieerfolg vorhersagt und einen signifikanten Einfluss auf die Fibroseentwicklung im natürlichen Verlauf der HCV-Infektion hat [78-80]. Eine Nukleotidsubstitution im YKL-40-Gen in Position rs4950928 von Guanin nach Cytosin führt zu höheren Spiegeln von YKL-40 und beschleunigt die Fibroseentwicklung bei Patienten mit HCV-Infektion im natürlichen Verlauf [81, 82]. Wir postulierten einen ähnlichen Effekt der Mutation auf die Entwicklung der Transplantatfibrose und überprüften die These in einem repräsentativen Kollektiv von Patienten mit HCV-Rekurrenz anhand longitudinaler Analyse der histologischen Protokolldaten aus mehr als 600 Biopsien und korrelierten diese mit den Ergebnissen der YKL-40-Genotypisierung der Transplantatempfänger. Hierbei konnten signifikante Unterschiede in der Entwicklungsdauer von fortgeschrittenen Fibrorestadien zwischen den Genotypen entdeckt werden. Homozygote Patienten für das C-Allel benötigten wesentlich mehr Zeit bis zur Entwicklung und bis zum histologischen Nachweis fortgeschrittener Fibrorestadien als Patienten mit CG- und GG-Genotypen. Im Rahmen dieser Analyse konnte darüber hinaus ein deutlich positiver Effekt von einer cyclosporin-basierten Immunsuppression im Vergleich zu Tacrolimus in Bezug auf die Fibroseprogression gezeigt werden. Ebenso war die aus CNI und MMF bestehende duale Immunsuppression im Vorteil gegenüber der CNI-Monotherapie im Hinblick auf die Fibroseprogression.

P3: *“YKL-40-gene polymorphism affects acute cellular rejection and fibrosis progression after transplantation for hepatitis C virus-induced liver disease”* Eurich D, Neumann UP, Boas-Knoop S, Neuhaus R, Kiessling A, Yahyazadeh A, Trautwein C, Wasmuth H, Puhl G, Neuhaus P, Bahra M. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013 Jan;28(1):153-60. doi: 10.1111/j.1440-1746.2012.07270.x.

Eines der wohl am aufsehenerregendsten Zytokine auf dem Gebiet der Fibroseforschung ist das sog. Interferon- λ oder IL28B. Dieses Zytokin ist entscheidend an der antiviralen Infektabwehr beteiligt, trägt zu unterschiedlichen Ansprechraten auf die IFN-basierte antivirale Therapie bei und kann in seltenen Fällen sogar zu einer spontanen Viruselimination im natürlichen Verlauf führen. Auch hierfür wurden genetische Polymorphismen verantwortlich gemacht und gerieten zweifellos in den Mittelpunkt der Aufmerksamkeit [65, 66, 83, 84]. Mehrere veränderte Genloci in unterschiedlicher Verteilung in der Bevölkerung sind bekannt. Der Nukleotidaustausch von Thymin gegen Guanin am Locus rs8099917 reduziert die Expression des Zytokins und drosselt somit das individuelle antivirale Potential. Wir korrelierten Genotypisierungsergebnisse von HCV-positiven Transplantatempfängern mit laborchemischen Daten hinsichtlich der Virämie und Transaminasen sowie histologischen Daten im Hinblick auf den Inflammationsgrad und das Fibroestadium aus longitudinalen Protokollleberbiopsien. Signifikant höhere Virämie- und Transaminasenniveaus konnten hier bei Patienten mit IL28B-G-Allel in Kontrast zum T-Allel nachgewiesen werden. Ebenfalls signifikante Unterschiede zeigten sich entsprechend den laborchemischen Daten bei Patienten mit unterschiedlichen IL28B-Genotypen in der histologischen Bestimmung des Inflammationsgrades. Zusammenfassend konnten wir schlussfolgern, dass das G-Allel im Vergleich zum T-Allel mit einem deutlich höheren hepatozellulären Schaden verbunden ist.

P4: „*Relationship between the interleukin-28b gene polymorphism and the histological severity of hepatitis C virus-induced graft inflammation and the response to antiviral therapy after liver transplantation*“ Eurich D, Boas-Knoop S, Ruehl M, Schulz M, Carrillo ED, Berg T, Neuhaus R, Neuhaus P, Neumann UP, Bahra M. *Liver Transpl.* 2011 Mar;17(3):289-98. doi: 10.1002/lt.22235.

Das IL28B-Gen zeigt eine weitere bedeutende Mutation an der Position rs12979860, die einen Basenaustausch von Cytosin nach Thymin impliziert. Diese führt ebenfalls über eine veränderte Expression des Zytokins zu deutlichen Unterschieden im individuellen antiviralen Abwehrpotential und moduliert sowohl im natürlichen Verlauf die HCV-Erkrankung als auch nach Lebertransplantation die Schwere des HCV-assoziierten Leberschadens. Auch für diese Mutation konnten wir deutliche Unterschiede in der Virämie nach der Transplantation und in der mittleren Entwicklungsdauer fortgeschrittener Fibrosestadien in einem Patientenkollektiv mit Reinfektionshepatitis nach Lebertransplantation nachweisen. Dabei übte das T-Allel eine negative Wirkung auf das Ausmaß der Virämie nach Lebertransplantation aus und beschleunigte signifikant die Entstehung einer Transplantatfibrose im fortgeschrittenen Stadium.

P5: *“Role of IL28B polymorphism in the development of hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma, graft fibrosis, and posttransplant antiviral therapy”*. Eurich D, Boas-Knoop S, Bahra M, Neuhaus R, Somasundaram R, Neuhaus P, Neumann U, Seehofer D. *Transplantation*. 2012 Mar 27;93(6):644-9.

doi: 10.1097/TP.0b013e318244f774.

Aktuell scheinen TGF- β 1- und IL28B-Polymorphismen die bedeutendsten endogenen Modulatoren der HCV-assoziierten Transplantatfibrose mit einer gut charakterisierten Rolle zu sein. Jedoch existieren weitere genetische Polymorphismen mit bis dato unbekannter Funktion, die trotzdem signifikante Assoziationen mit der individuellen Fibrosedynamik zeigen, obwohl ihre pathogenetische Rolle noch nicht im Detail verstanden wird [85, 86].

So wurde in einer weiteren Arbeit ein Score aus den Genotypisierungsergebnissen von 7 Polymorphismen zur Risikoeinschätzung für die Entwicklung einer Transplantatzirrhose bei HCV-Rekurrenz gebildet. Diese genetische Signatur ermöglichte es, das Risiko für die Entwicklung einer Transplantatzirrhose individuell mit einer nennenswerten Vorhersagekraft einzuschätzen.

P6: *„A 7-gene signature of the recipient predicts the progression of fibrosis after liver transplantation for hepatitis C virus infection“*. do O NT*, Eurich D*, Schmitz P, Schmeding M, Heidenhain C, Bahra M, Trautwein C, Neuhaus P, Neumann UP, Wasmuth HE. *Liver Transpl.* 2012 Mar;18(3):298-304. doi: 10.1002/lt.22475.

2.2. Genetische Prädiktoren des antiviralen Therapieerfolgs

Eine Erklärung für die niedrige und individuell unterschiedliche Ansprechrate auf die IFN-basierte antivirale Therapie der HCV-Infektion nach einer Lebertransplantation konnte zumindest teilweise erstmals aus den Mutationen des IL28B-Gens, die bereits im Abschnitt der Fibroseentwicklung beschrieben sind, abgeleitet werden [87, 88].

So fanden sich protektive und zur Fibroseprogression predisponierende Genotypen des IL28B-Gens, die ebenfalls den Erfolg der antiviralen Therapie vorhersagen konnten und aktuell eine wichtige, international anerkannte Stütze für die Indikationsstellung und den Durchführungsmodus der antiviralen Therapie darstellen. Das T-Allel am Locus rs12979860 war signifikant mit einer niedrigeren Ansprechrate auf die antivirale Therapie assoziiert und begünstigte die Entwicklung der HCV-assoziierten Transplantatfibrose.

P5: *“Role of IL28B polymorphism in the development of hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma, graft fibrosis, and posttransplant antiviral therapy”*. Eurich D, Boas-Knoop S, Bahra M, Neuhaus R, Somasundaram R, Neuhaus P, Neumann U, Seehofer D. *Transplantation*. 2012 Mar 27;93(6):644-9.

doi: 10.1097/TP.0b013e318244f774.

Ähnlich verhielt sich der Polymorphismus rs8099917, wobei das G-Allel signifikant mit antiviralem Therapieversagen assoziiert ist.

P4: *„Relationship between the interleukin-28b gene polymorphism and the histological severity of hepatitis C virus-induced graft inflammation and the response to antiviral therapy after liver transplantation”* Eurich D, Boas-Knoop S, Ruehl M, Schulz M, Carrillo ED, Berg T, Neuhaus R, Neuhaus P, Neumann UP, Bahra M. *Liver Transpl.* 2011 Mar;17(3):289-98. doi: 10.1002/lt.22235.

2.3. Alternative antiviralen Therapie

Die niedrige Ansprechrate und das ausgeprägte Nebenwirkungsprofil der IFN-basierten antiviralen Therapie warf die Frage nach alternativen Therapieoptionen für HCV-reinfizierte Patienten auf. Die antivirale Eigenschaft der kürzlich wiederentdeckten pflanzlichen Substanz Silibinin beruht auf der Hemmung der HCV-Polymerase [89]. Als potenter Radikalfänger ist Silibinin in der Lage, den in der Pathogenese der chronischen Lebererkrankungen wichtigen Schritt der Lipidperoxidation zu hemmen und die Viruslast durch eine direkte Hemmung der RNA-abhängigen HCV-Polymerase zu senken. Darüber hinaus unterdrückt Silibinin die Bildung von Narbengewebe durch eine direkte Inhibition der hepatischen Sternzelle und der Synthese von TGF- β 1 [90-93]. Bei intravenöser Applikation von Silibinin können diese Eigenschaften relevant entfaltet werden und bei einem Teil der Patienten zu einer dauerhaften Viruselimination führen. In der nachfolgenden Arbeit wurde die intravenöse Verabreichung von hochdosiertem Silibinin an einer Reihe von Patienten nach erfolgloser vorangegangener IFN-Therapie untersucht. Es konnte dabei gezeigt werden, dass die Silibininmonotherapie in der Lage war, die Virusfreiheit herbeizuführen.

P7: "Treatment of hepatitis C-virus-reinfection after liver transplant with silibinin in nonresponders to pegylated interferon-based therapy". Eurich D, Bahra M, Berg T, Boas-Knoop S, Biermer M, Neuhaus R, Neuhaus P, Neumann U. Exp. Clin. Transplant. 2011 Feb;9(1):1-6.

2.4. Genetische Determinanten der akuten zellulären Rejektion

Unter der Annahme, dass immunmodulatorisch aktive Gene die Inzidenz der akuten zellulären Rejektion (ACR) nach Lebertransplantation beeinflussen können, wurde die These in einem homogenen HCV-positiven Patientenkollektiv nach Lebertransplantation überprüft. Anhand der Genotyp-Verteilungen des YKL-40-Gens an der o.g. Position wurde eine signifikante Differenz zwischen Patienten mit und ohne Rejektion festgestellt. Es wurde die Schlussfolgerung gezogen, dass das YKL-40-G-Allel einen negativen Einfluss auf die ACR-Inzidenz ausübt und diese bei vergleichbarer Tiefe der Immunsuppression determiniert. Ferner wurde ein weiterer endogener Aspekt beleuchtet, für den es bis heute keine plausible Erklärung gegeben hatte. Empfänger gleichgeschlechtlicher Organe entwickelten signifikant häufiger eine ACR als Patienten mit unterschiedlich geschlechtlichen Transplantaten.

P3: *“YKL-40-gene polymorphism affects acute cellular rejection and fibrosis progression after transplantation for hepatitis C virus-induced liver disease”* Eurich D, Neumann UP, Boas-Knoop S, Neuhaus R, Kiessling A, Yahyazadeh A, Trautwein C, Wasmuth H, Puhl G, Neuhaus P, Bahra M. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013 Jan;28(1):153-60. doi: 10.1111/j.1440-1746.2012.07270.x.

Eine weitere Genmutation, die im Kontext der akuten zellulären Rejektion untersucht wurde, betraf das Mannose-bindende Lektin (MBL-2), das mit der Entwicklung von schweren Infektionen nach Organtransplantation in Zusammenhang steht [94]. MBL-2 beteiligt sich an der antikörperunabhängigen Komplementaktivierung und kann somit aufgrund einer individuell variablen Expression immunmodulierend wirken. Im natürlichen Verlauf der HCV-Infektion konnte eine signifikante Assoziation des MBL-2-Genpolymorphismus (rs7096206; C->G) mit der Krankheitssuszeptibilität und dem HCV-assoziierten Krankheitsverlauf gezeigt werden [95, 96]. Eine signifikante Assoziation des MBL-2-C-Allels mit dem Auftreten einer akuten zellulären Rejektion wurde in folgender Arbeit gezeigt.

P8: *„Role of mannose-binding lectin-2 polymorphism in the development of acute cellular rejection after transplantation for hepatitis C virus-induced liver disease”.* Eurich D, Boas-Knoop S, Yahyazadeh A, Neuhaus R, Somasundaram R, Ruehl M, Puhl G, Neuhaus P, Neumann UP, Bahra M. *Transpl Infect Dis.* 2012 Oct;14(5):488-95. doi: 10.1111/j.1399-3062.2012.00747.x.

2.5. Genetische Faktoren in der Entstehung des hepatozellulären Karzinoms

Die Entwicklung eines hepatozellulären Karzinoms auf dem Boden einer Leberzirrhose unterliegt zumindest partiell genetischen Einflussfaktoren, da nur eine Minderheit der Patienten tatsächlich ein Karzinom und dies häufig unabhängig vom Stadium der chronischen Lebererkrankung entwickelt. Die nach der Hepatektomie im Rahmen der Transplantation zur Verfügung stehenden Lebern wurden histologisch untersucht und im Hinblick auf das Vorhandensein und die Ausdehnung entsprechend dem TNM-Stadium exakt charakterisiert. In der Gegenüberstellung der Genotypisierungsergebnisse von MBL-2 (rs7096206) konnte eine signifikante Assoziation des MBL-2-G-Allels mit dem Vorhandensein eines HCCs, eines bilobären Wachstums und der Serumkonzentration des α -Fetoproteins (AFP) nachgewiesen werden. Somit wurde eine neue bis dato unbekannte genetische Determinante in der Kanzerogenese im Hinblick auf das HCC entdeckt und ein protektiver Effekt des C-Allels demonstriert.

P9: *“Association of mannose-binding lectin-2 gene polymorphism with the development of hepatitis C-induced hepatocellular carcinoma”*. Eurich D, Boas-Knoop S, Morawietz L, Neuhaus R, Somasundaram R, Ruehl M, Neumann UP, Neuhaus P, Bahra M, Seehofer D. *Liver Int.* 2011 Aug;31(7):1006-12.

doi: 10.1111/j.1478-3231.2011.02522.x.

Vorliegende histologische Angaben zu explantierten Lebern wurden auch im Hinblick auf die Genotypisierungsergebnisse von IL28B (rs12979860) analysiert. Hierbei zeigte sich eine signifikante Assoziation des TT-Genotyps mit dem Vorhandensein eines HCCs in der explantierten Leber. In dieser Arbeit wurde somit ein weiterer genetischer Marker für die HCC-Entwicklung identifiziert.

P5: *“Role of IL28B polymorphism in the development of hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma, graft fibrosis, and posttransplant antiviral therapy”*. Eurich D, Boas-Knoop S, Bahra M, Neuhaus R, Somasundaram R, Neuhaus P, Neumann U, Seehofer D. *Transplantation*. 2012 Mar 27;93(6):644-9.

doi: 10.1097/TP.0b013e318244f774.

2.6. Genetische Modulatoren der Nierenfunktion nach Lebertransplantation

Die langfristige Nierenfunktion des Rezipienten nach Lebertransplantation entwickelt sich sehr unterschiedlich, wobei sich in bis zu 20% der Fälle innerhalb von 5 Jahren eine chronische Nierenerkrankung ausbilden kann. Der wichtigste und leider unvermeidbare Risikofaktor für die Entwicklung der Nierenerkrankung ist die CNI-basierte Immunsuppression. CNIs induzieren über die Synthese von vasokonstriktorisches Substanzen eine Hypoxie in der Niere und stimulieren so die Synthese von fibrogenen Faktoren wie z.B. TGF- β 1 mit dem Ergebnis der Bildung einer interstitiellen Fibrose. Da das TGF- β 1-Gen polymorph vorliegt, wurde die Bedeutung der Nukleotidsubstitution am Codon 25 von Guanin nach Cytosin in einem großen Kollektiv im Hinblick auf die Dynamik der glomerulären Filtrationsrate nach Lebertransplantation untersucht. Hierbei konnte eine negative Rolle des C-Allels des Empfängers auf die Nierenfunktion vor der Transplantation festgestellt werden. Gleichzeitig zeigten die Patienten mit dem C-Allel nach Transplantation eine signifikant günstigere GFR-Dynamik im Sinne einer Erholung nach initial schlechterer Nierenfunktion.

P10. *“Transforming growth factor- β 1-gene polymorphism in the development of kidney disease after liver transplantation”*. Eurich D, Neumann UP, Boas-Knoop S, Neuhaus R, Bahra M, Neuhaus P, Schmitz V. *Transplantation*. 2012 Mar 15;93(5):555-60.

doi: 10.1097/TP.0b013e318242be0b.

3. Diskussion

Genetische Polymorphismen von enzymatischen Systemen, Zytokinen und Wachstumsfaktoren, die sich an den Prozessen der Inflammation, der Immunomodulation, der antioxidativen Stressabwehr und des Matrixmetabolismus beteiligen, sind dazu in der Lage, das individuell unterschiedliche Ausmaß der hepatozellulären Schädigung vor und nach der Lebertransplantation zu erklären [9, 97, 98]. Ferner lässt sich anhand der genetischen Variationen nicht nur der Verlauf der Fibroseentwicklung, sondern auch die Aussicht auf eine erfolgreiche antivirale Therapie, das Auftreten einer akuten zellulären Rejektion sowie die Neigung zur Entstehung eines hepatozellulären Karzinoms vorhersagen [87]. Zahlreiche Assoziationsstudien demonstrieren einen signifikanten Einfluss genetischer Varianten auf die Entwicklung, den Verlauf und die Schwere der HCV-induzierten Lebererkrankung einschließlich des hepatozellulären Karzinoms [6, 69, 83].

3.1. HCV-induziertes hepatozelluläres Karzinom

Im Rahmen der Lebertransplantation entsteht ein uneingeschränkter Zugang zum Explantat und somit auch die Möglichkeit einer exakten Schadenserfassung mit Hilfe der histologischen Untersuchung im Hinblick auf die Art der Erkrankung, das Fibrorestadium und den Tumor. Dieser entscheidende Vorteil ermöglicht die endgültige und somit die genaueste Charakterisierung des Ausmaßes der onkologischen Erkrankung im Hinblick auf die Tumorgröße, das Wachstumsmuster, den Differenzierungsgrad, den Lymphknotenbefall und die vaskuläre Invasion. Zusammen mit Laborparametern einschließlich der Exkretions- und Syntheseparameter sowie des Tumormarkers (AFP) entsteht ein erheblicher Informationsgehalt über das tatsächliche Ausmaß der Lebererkrankung, die in ihrem Endstadium zur Organtransplantation geführt hat.

In den meisten zu diesem Thema durchgeführten Studien fehlen diese endgültigen Aspekte, so dass die Zuverlässigkeit der Ausgangsdaten mit Recht angezweifelt werden kann. Eine fehlende histologische Diagnose korrumpiert die Ausgangsbasis für Assoziationsstudien, da sich kleinere HCC-Knoten der Diagnose durch etablierte bildgebende Verfahren entziehen und für Zirrhose typische Regeneratknoten als Lebertumore interpretiert werden können. Nur eine endgültige und vollständige histologische Untersuchung der Organs, die im Rahmen einer Transplantation möglich ist, liefert zuverlässige Aussagen zum Ausmaß der Lebererkrankung und kann für weitere Analysen, wie z.B. die Assoziationsstudien, verwendet werden.

Im Rahmen unserer Arbeiten wurde nachgewiesen, dass der genetische Polymorphismus von MBL-2 (rs7096206) die Entstehung eines HCV-assoziierten

HCCs begünstigt. Anhand der genauen histologischen Analyse der explantierten Lebern und der erfassten biochemischen Parameter vor der Transplantation ließ sich im Zusammenhang mit der MBL-2-Genotypisierung zeigen, dass bei Patienten mit einem G-Allel des MBL-2-Gens signifikant häufiger ein HCC nachgewiesen wird. Darüber hinaus waren die HCC-Knoten bei Patienten mit einem G-Allel signifikant größer und zeigten häufiger ein bilobäres Wachstum im Vergleich zu Patienten mit einem C-Allel. Interessanterweise zeigte sich eine signifikante Assoziation des C-Allels bei HCC-Patienten mit negativem AFP-Status, wobei höhere AFP-Spiegel bei der Präsenz des G-Allels beobachtet wurden.

Im natürlichen Verlauf scheinen veränderte MBL-Serumspiegel die Empfänglichkeit für eine HCV-Infektion, die Fibroseentwicklung und die antivirale Abwehr sowie die Ansprechrate für eine antivirale Therapie zu beeinflussen [99-102]. Nach der Lebertransplantation konnte die genetische Variation des MBL-2 für die genannten Vorgänge nicht verantwortlich gemacht werden. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte hingegen ein Zusammenhang des MBL-2-Genpolymorphismus mit der Onkogenese vor der Lebertransplantation anhand maximal charakterisierter Explantate gezeigt werden. Diese Erkenntnis ist angesichts der publizierten Studien bis dato neu und könnte als ergänzendes Diagnostikum im Zusammenhang mit der HCV-assoziierten HCC-Entwicklung dienen.

Bei der Bestimmung des Einflusses von IL28B-Mutationen auf die Schwere der HCV-Rekurrenz wurde das Konzept der Korrelation der Genotypisierungsergebnisse mit der histologischen Charakterisierung der Explantate im Hinblick auf die Karzinogenese angewandt. Unserer Arbeitsgruppe gelang es erstmals, eine weitere Variation des IL28B-Gens (rs12979860) nicht nur im Hinblick auf die HCV-Rekurrenz, sondern auch im Zusammenhang mit der Entstehung des HCCs zu identifizieren. Die Verteilung der IL28B-Genotypen unterschied sich hierbei signifikant zwischen den Patienten mit und ohne HCC. Die Prävalenz des TT-Genotyps war signifikant höher bei Patienten mit HCC. HCC-Patienten mit dem TT-Genotyp zeigten ebenfalls höhere AFP-Spiegel, obwohl kein signifikanter Unterschied zwischen der Tumorgroße vorlag. In der multivariaten Analyse blieben der TT-Genotyp und ein höheres Patientenalter unabhängig voneinander mit dem Auftreten von HCC assoziiert. Ähnliche Beobachtungen zum IL28B-Polymorphismus wurden von einer anderen unabhängigen Arbeitsgruppen gemacht [103].

Die Genotypverteilung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren wie TGF- β 1, YKL-40, STAT-4 waren vergleichbar innerhalb der HCC-Patientengruppen, so dass keine Assoziationen mit der HCC-Entstehung innerhalb der Kollektive festgestellt werden konnten.

Zusammenfassend ist eine genaue Charakterisierung der Leber im Hinblick auf das Ausmaß des hepatozellulären Schadens und des Tumorwachstums innerhalb homogener Kohorten für die Durchführung von Assoziationsstudien von größter Bedeutung. Diese Erfordernisse wurden in den vorliegenden Arbeiten erfüllt. Zudem konnten zwei genetische Marker für die HCC-Entstehung identifiziert werden. Diese Erkenntnisse könnten z.B. im Rahmen einer Bridgingtherapie vor der Lebertransplantation und der Indikationsstellung zur Lebertransplantation berücksichtigt werden.

3.2. Akute zelluläre Rejektion

Zu den frühen Ereignissen nach der Lebertransplantation auf dem Boden einer HCV-assoziierten Lebererkrankung zählen die Reinfektion mit Hepatitis-C-Viren und das Auftreten der akuten zellulären Rejektion. In der Zeit unmittelbar nach der Lebertransplantation stellt sich ein empfindliches Gleichgewicht zwischen der Transplantattoleranz und dem Ausmaß der Reinfektion ein. Mit Hilfe moderner Immunsuppressiva lässt sich meistens eine gewünschte Immunsuppressionstiefe einstellen, um eine Rejektion zu vermeiden, jedoch wird dadurch das Aufflammen der Virämie begünstigt. Noch gravierender im Hinblick auf die Reinfektion ist das Auftreten einer akuten zellulären Rejektion in der sensiblen Frühphase, da die Rejektionsbehandlung mit Hilfe von Kortikosteroiden und bei entsprechender Notwendigkeit mit Antithymoglobulin zumindest vorübergehend eine noch tiefere Immunsuppression erfordert, die sich wiederum negativ auf das Ausmaß der HCV-Rekurrenz auswirkt. So konnte demonstriert werden, dass der Einsatz von Kortikosteroiden eine höhere Virämie auslöst und die Entwicklung einer Transplantatfibrose begünstigt [60].

Am häufigsten tritt die akute zelluläre Rejektion innerhalb des ersten Jahres nach der Transplantation auf. Das immunsuppressive Behandlungsregime ist hierbei von größter Bedeutung. Obwohl viele Prozesse noch nicht im Einzelnen verstanden werden, vermutet man endogene bzw. genetische Risikofaktoren für die Entstehung der Rejektion. In der Analyse der demographischen Aspekte der Patienten mit histologisch nachgewiesener Rejektion im Rahmen unserer Arbeit waren ein jüngeres Empfängeralter sowie Gleichgeschlechtlichkeit des Spenders und des Empfängers mit dem Auftreten der Rejektion assoziiert. Möglicherweise benötigen jüngere Patienten und Empfänger von Organen gleichen Geschlechts eine etwas stärker eingreifende immunsuppressive Medikation als der aktuell geltende Standard. Genetisch bedingte Veränderungen in den YKL-40-Spiegeln zeigten eine Assoziation mit dem Auftreten der Rejektion nach Herztransplantation [64]. Basierend auf den Ergebnissen der

histologischen Untersuchungen der Transplantatlebern im Hinblick auf die Rejektion wurde die Bedeutung der YKL-40-Genmutation am Locus (rs4950928) herausgearbeitet [104]. Hierbei zeigten sich signifikante Unterschiede in der Inzidenz der akuten zellulären Rejektion innerhalb der YKL-40-Genotypen. Erstmals gelang es, das G-Allel von YKL-40 im Empfänger als möglicherweise ursächlich für die Entstehung der Rejektion in einem homogenen HCV-positiven Kollektiv nach Lebertransplantation zu identifizieren [105]. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass Patienten mit dem YKL-40-G-Allel nicht nur häufiger eine akute zelluläre Rejektion, sondern auch signifikant schneller ein fortgeschrittenes Stadium der Transplantatfibrose entwickeln. Die Erfassung der Transplantatfibrose basierte auf longitudinalen Ergebnissen der histologischen Untersuchungen und galt somit als zuverlässig. Diese Beobachtung verwundert nicht, da das Auftreten einer akuten Rejektion eine Rejektionsbehandlung erfordert. Durch die verstärkte Immunsuppressionstiefe wird das Ausmaß der HCV-Rekurrenz begünstigt, die sich in einer schnelleren Fibroseprogression äußert.

Neben dem beschriebenen YKL-40-Polymorphismus, konnte eine signifikante Assoziation der genetischen Variante von MBL-2 (rs7096206) mit der Inzidenz der akuten zellulären Rejektion erstmals bei HCV-positiven Patienten nach Lebertransplantation gezeigt werden [106]. Hierbei konnte der CC-Genotyp als Risikofaktor für die Rejektionsentwicklung identifiziert werden. Eine niedrigere ACR-Inzidenz bei Patienten mit G-Allel verglichen mit C-Allel bestätigt die im Vorfeld gemachte Beobachtung, dass MBL-Mangel mit einer geringeren Neigung zur Rejektion nach Nieren- und Herztransplantation einhergeht [63, 107]. Die Beobachtung einer höheren ACR-Inzidenz bei Patienten mit dem CC-Genotyp erscheint plausibel, da mehr funktionsfähiges, immunologisch aktives MBL-2-Protein die Transplantattoleranz stärker beeinträchtigen und somit die Rejektion auslösen kann. Zusammenfassend scheint die akute zelluläre Rejektion einer genetischen Kontrolle zu unterliegen und kann damit Einflüsse auf das Ausmaß der HCV-Rekurrenz entfalten.

3.3. HCV-induzierte Transplantatfibrose

Die individuell unterschiedliche Art der HCV-Rekurrenz kann anhand des Verlaufs grob in drei Gruppen unterteilt werden. Die erste Gruppe umfasst die Patienten, welche trotz der HCV-Infektion und teilweise ohne antivirale Therapie gar keine Fibroseprogression zeigen. Zur zweiten Gruppe gehören die Patienten, die ohne antivirale Behandlung eine Fibroseprogression zeigen, diese jedoch verlangsamt oder durch eine erfolgreiche antivirale Therapie beendet werden kann. Die dritte Gruppe beinhaltet die Patienten, die eine starke Neigung zur Fibroseprogression haben, auf die antivirale Therapie nicht

ansprechen und leider den Teil der Patienten darstellen, der eine unaufhaltsame Transplantatfunktionsverschlechterung zeigt, einen Transplantatverlust erleidet und eine erneute Lebertransplantation benötigt. Die Differenzierung der Patienten mit unterschiedlicher Fibroseneigung ist für die Initiierung der antiviralen Therapie und für die Abschätzung der Prognose unerlässlich.

Die Fibrose als Akkumulation der extrazellulären Matrix stellt ein uniformes Bild der chronischen Leber- oder Lebertransplantaterkrankung dar und lässt sich histologisch prinzipiell leicht erfassen. Für die Einschätzung der Schwere existieren einige Klassifikationen, die sich im Wesentlichen auf den Gehalt des Narbengewebes und auf das Ausmaß des Parenchyumbaues stützen. Eine der gängigsten und zuverlässigsten im Hinblick auf die Reproduzierbarkeit ist hierbei die Fibrostadieneinteilung nach Desmet und Scheuer (F1: geringe portale Fibrose ohne Septen, F2: mäßige Fibrose mit portaler Faservermehrung, F3 hochgradige Fibrose mit zahlreichen Septen, ohne Zirrhose, F4: vollständiger Umbau, Zirrhose) [30, 33]. Um eine Aussage über die Fibroseentwicklung und Fibroseprogression zu treffen ist, es unabdingbar, Ergebnisse von mindestens zwei histologischen Untersuchungen in einem bestimmten Abstand nach der Lebertransplantation gegenüberzustellen.

Da die Klassifikation der Fibrosestadien höchstens semiquantitativ ist, und die Stadien selbst einem ordinalen Dateniveau entsprechen, sind arithmetische Operationen begrenzt, wenn nicht nahezu unmöglich. Protokollleberbiopsien in definierten zeitlichen Abständen sind unumgänglich, um eine zuverlässige Aussage zur Dynamik der Fibroseentstehung zu treffen und eine vergleichbare Basis für die Durchführung der Assoziationsstudien zu schaffen. Bei engeren Zeitabständen ist sogar ein metrischer Datengewinn als Zeit bis zum Erreichen eines bestimmten Fibrosestadiums möglich. Dieser Aspekt muss in jeder Studie, die sich mit dem Thema der Fibroseprogression beschäftigt, berücksichtigt werden.

Insgesamt müssen für eine Erkrankung oder für ein Ereignis pathophysiologisch relevante Gene in Betracht gezogen werden. Eine genaue Charakterisierung und eine maximale Vergleichbarkeit der Kollektive im Hinblick auf ein bestimmtes Ereignis müssen gewährleistet sein, um eine Verfälschung der Ergebnisse durch populationsspezifische Faktoren zu vermeiden. So müssen sowohl das untersuchte Kollektiv als auch die Kontrollgruppe ein und demselben ätiologischen Einfluss, z.B. HCV, ausgesetzt sein. Die Kontrollgruppe muss demzufolge statistisch dem gleichen Risiko für die Krankheitsentwicklung ausgesetzt sein, so dass beispielsweise gesunde Probanden sich für Kontrollgruppen meistens nicht eignen. Das Ziel der besten Vergleichbarkeit der Gruppen ist somit die Minimierung falsch positiver oder negativer Beobachtungen [97, 108].

3.4. Risikofaktoren für Fibroseprogression

Die bis dato kontrovers diskutierte Rolle des genetischen Polymorphismus von TGF- β 1 am Codon 25 konnte anhand eines großen und maximal charakterisierten Kollektivs mit HCV-Rekurrenz entsprechend der o.g. Anforderungen geklärt werden [68, 109]. Hierbei konnte eine signifikante Assoziation des G-Allels mit der Entwicklung fortgeschrittener Fibrosestadien und somit sein fibrogenes Potential in einem homogenen Transplantiertenkollektiv mit HCV-Rekurrenz gezeigt werden [110].

In den kürzlich durchgeführten genomweiten Assoziationsstudien wurden signifikante Unterschiede in der Verteilung polymorph vorliegender Gensequenzen von IL28B im Hinblick auf Fibrosestadium und antiviralen Therapieerfolg identifiziert [65, 83]. Es konnte nachgewiesen werden, dass die spontane HCV-Elimination weitgehend von den Mutationen im IL28B-Gen abhängt und dadurch zu einem gewissen Grad vorauszusagen ist [111]. Das Ergebnis der IFN-basierten antiviralen Therapie hängt ebenfalls von den Varianten des IL28B-Gens ab [66].

Nach der Lebertransplantation unterliegen der Inflammationsgrad, die Fibroseprogression und der antivirale Therapieerfolg ebenfalls dem Einfluss von Polymorphismen des IL28B-Gens. Unserer Arbeitsgruppe gelang es, eine signifikante Assoziation des G-Allels (rs8099917) und des T-Allels (rs12979860) des IL28B-Gens mit dem Inflammationsgrad und dem Fibrosestadium des Transplantates bei HCV-positiven Patienten und der Aussicht auf eine erfolgreiche antivirale Therapie innerhalb eines gut charakterisierten Kollektivs zu demonstrieren [88, 112]. Diese ungünstigen Varianten des IL28B-kodierenden Gens prädisponieren den transplantierten Patienten zu einer höheren Virämie, einer stärkeren Inflammation und einer Fibroseprogression sowie zu einer geringeren Aussicht auf eine erfolgreiche antivirale Therapie. Diese Erkenntnisse sind im Einklang mit Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen auf dem Gebiet der Transplantatfibroseforschung [87].

Ebenfalls neu ist die Entdeckung der Bedeutung des YKL-40-Polymorphismus (rs4950928) im Kontext der HCV-Rekurrenz. Es konnte gezeigt werden, dass das G-Allel des Empfängers mit einer höheren Rate von akuten Rejektionen assoziiert ist und zu einer schnelleren Fibroseentwicklung führt [105]. Es bleibt jedoch unklar, ob diese Genvariante an sich profibrogen wirkt, oder ob eher die Folgen der Rejektion bekanntermaßen zur Progression der Grunderkrankung führen, da Berres et al. für den natürlichen Verlauf der HCV-Infektion entgegengesetzte Ergebnisse vorgelegt haben [82]. Diese Beobachtungen müssen nicht zwangsläufig im Widerspruch stehen, da sich der natürliche Verlauf der HCV-Infektion substantiell von der HCV-Rekurrenz unterscheiden kann, wenn man den transplantierten Patienten als ein aus zwei genetischen Pools zusammengesetztes Individuum versteht. So ist es zumindest

theoretisch denkbar, dass Gene des Empfängers und des Spenders einen funktionellen Chimärismus bilden, der sich unterschiedlich je nach Zeitpunkt auf die Entstehung von verschiedenen Phänomenen und Ereignissen nach der Transplantation auswirken kann. Die Kolonisierung des Transplantates durch empfängerspezifische Zellen unterstützt diese Theorie [113, 114]. Im Einzelnen ist dieses Thema jedoch sehr spärlich untersucht und sollte deshalb zum Gegenstand weiterer Forschung werden.

Neben polymorph vorliegenden Genen für Aktivatoren der hepatischen Sternzelle wie TGF- β 1 und Modulatoren der Inflammation wie IL28B scheinen die genetischen Variationen des Jak-STAT-Signalwegs, die sich an den Prozessen der Inflammation und Fibroseentwicklung beteiligen, in diesem Kontext ebenfalls eine Rolle zu spielen. Die IL-12-vermittelte Aktivierung des STAT-4 reguliert Gewebsinflammation, Fibrogenese und die antivirale Abwehr [76, 77]. Der Polymorphismus des STAT-4-Gens (rs7574865) verändert die Funktionalität des Proteins und scheint, nicht nur im Bereich der Autoimmunerkrankungen mit verstärkter Fibrogenese, sondern auch bei HCV-Rekurrenz mit einer unterschiedlichen Neigung zur Fibrosebildung im Transplantat einherzugehen [115-117]. Das T-Allel, wie es in unserer Arbeit anhand eines repräsentativen Kollektivs demonstriert werden konnte, zeigt eine signifikante Assoziation mit der Entwicklung fortgeschrittener Fibrosestadien und beschleunigt die Zeitdauer bis zur Entwicklung fortgeschrittener Fibrosestadien. Entgegen der Erwartung spielt diese Mutation aber keine Rolle in der antiviralen Therapie und im Auftreten einer akuten zellulären Rejektion. Bis dato liegen in der Literatur keine vergleichbaren Daten zu diesem Thema vor. In Kombination mit dem profibrogenen G-Allel des TGF- β 1-Gens war die Zeitdauer bis zum Erreichen einer fortgeschrittenen Fibrose bei Patienten mit dem ungünstigen STAT-4-Polymorphismus noch geringer.

Abgesehen von Genen mit klarer und plausibler Funktionalität existieren Modulatoren der Fibrogenese mit einer aktuell noch nicht im Ganzen verstandenen Rolle. Huang et al. stellten einen Score für die Entwicklung einer HCV-induzierten Leberzirrhose im natürlichen Verlauf der HCV-Infektion anhand von sieben Genpolymorphismen auf und hatten damit eine beträchtliche Vorhersagekraft für die Entwicklung des Endstadiums der Lebererkrankung [85, 86]. Dieses Modell wurde daraufhin durch unsere Arbeitsgruppe im Kontext der HCV-Rekurrenz angewandt und führte zu einer ähnlichen Beobachtung [118]. Zur Erhöhung der Vorhersagekraft empfiehlt sich für die Zukunft eine Kombination aus Genotypisierungen und anderen laborchemischen oder epidemiologischen Risikofaktoren für die Entwicklung der Leberzirrhose [119, 120].

Profibrogene Faktoren wirken nicht nur im HCV-reinfizierten Transplantat, sondern auch in der Niere, die nach Lebertransplantation aufgrund einer langjährigen CNI-

Exposition der chronischen Hypoxämie ausgesetzt ist. Diese löst in unterschiedlichem Ausmaß die Synthese von fibrogenen Zytokinen aus, die eine tubuläre Atrophie mit interstitieller Fibrose fördern können [72, 121, 122]. Bei der Mehrzahl der Patienten bleibt die glomeruläre Filtrationsrate entweder weitgehend gleich oder sie verschlechtert sich, wobei etwa ein Viertel der Patienten eine GFR-Zunahme erfährt [123]. Ähnlich zur Herztransplantation zeigt das G-Allel in der späten in der späten postoperativen Periode höhere Werte der GFR als das C-Allel [123, 124]. Das weniger profibrogen wirkende C-Allel ist jedoch signifikant mit der Erholung der GFR im späteren Verlauf nach Lebertransplantation assoziiert [123].

3.5. Prädiktoren des antiviralen Therapieerfolgs

Die Chance auf einen dauerhaften antiviralen Behandlungserfolg setzt sich aus zahlreichen Faktoren zusammen, die sich in virus-, patienten- und behandlungsabhängige Gruppen zusammenfassen lassen. Wichtig für den Behandlungsausgang ist der virale Genotyp und die initiale Veränderung der Virämie unter der Therapie [34, 125].

Das breite Spektrum der unerwünschten Wirkungen der beiden gängigen antiviralen Substanzen (Peg-IFN / RBV) limitiert einen uneingeschränkten Einsatz der Therapeutika und führt häufig zum vorzeitigen Behandlungsende ohne Viruselimination. Die Interaktion mit dem Metabolismus der Immunsuppressiva und das Auftreten beträchtlicher hämatologischer und psychischer Nebenwirkungen erschweren einen uneingeschränkten Einsatz von Proteaseinhibitoren in Kombination mit einer IFN-basierter Therapie [42, 43]. Nicht minder wichtig in der Abschätzung des antiviralen Behandlungserfolgs erscheint die individuelle genetische Ausstattung des Patienten und damit sein antivirales Abwehrpotential sowohl im natürlichen Verlauf der HCV-Infektion als auch im Rahmen der HCV-Rekurrenz. Eine kürzlich aufgezeigte Assoziation der genetischen Polymorphismen von IL28B mit dem IFN-basierter antiviralen Therapieerfolg im natürlichen Verlauf der HCV-Infektion ist aktuell ein integrierter Bestandteil des prädikativen diagnostischen Instrumentariums [66, 83, 126]. Diese Beobachtung wurde ausgiebig auch bei transplantierten Patienten mit HCV-Rekurrenz untersucht und ebenfalls als signifikant bestätigt [87, 88, 112]. Die im Rahmen der vorliegenden Arbeiten gewonnenen Erkenntnisse basierten ausschließlich auf den Genotypisierungsergebnissen der Empfänger, da keine Untersuchungen im Hinblick auf die Spenderpolymorphismen durchgeführt wurden. Donorpolymorphismen können ebenfalls an der Pathogenese der Transplantaterkrankungen beteiligt sein. Unterschiedliche genetische Hintergründe des Spenders und des Empfängers bilden einen künstlich zusammengesetzten Organismus mit Genen zweier Individuen, die

miteinander interagieren und den Verlauf nach der Transplantation zusammen beeinflussen können. Eine Besiedelung des Transplantates durch Empfängerzellen ausgehend von Endothelzellen konnte bereits nachgewiesen werden. Dieser genetische Chimärismus kann den Verlauf nach der Lebertransplantation in unterschiedlicher Weise gewebs- und zeitpunktabhängig beeinflussen und pathogenetisch relevant sein [113, 114]. Bezogen auf den IL28B-Polymorphismus des Spenders und des Empfängers scheinen beide in den Verlauf der Transplantaterkrankung und in die Modulation der antiviralen Ansprechrate relevant involviert zu sein [42]. Inwieweit und zu welchem Zeitpunkt welches genetische Pool dominiert, ist aktuell unklar.

3.6. Alternative antivirale Therapieansätze

Die antivirale Kombinationstherapie aus PEG-IFN und RBV führt in 60-70% der behandelten Patienten zu keinem nachhaltigen Therapieerfolg i.S. einer dauerhaften Viruselimination und begründet somit die Notwendigkeit einer Suche nach weiteren antiviralen Therapiemöglichkeiten. Silibinin ist eine seit längerem bekannte pflanzliche Substanz, die bei Patienten mit chronischen Lebererkrankungen zum Einsatz kommt [90, 127]. Neben den drei weiteren bekannten Isomeren ist Silibinin am stärksten pharmakologisch aktiv und zeigt Verbesserungen der Leberfunktion in einem breiten Spektrum von chronischen und akuten Lebererkrankungen [128-130].

Bei oraler Verabreichung entfaltet Silibinin weit weniger antivirale Eigenschaften als bei intravenöser Gabe. Ferenci et al. demonstrierten einen beträchtlichen antiviralen Effekt bei Patienten nach erfolgloser IFN-basierter Therapie im natürlichen Verlauf der Hepatitis-C-Infektion. Hierbei konnte ein dosis- und behandlungsdauerabhängiger antiviraler Effekt, gemessen an der Virämie, während und nach der Behandlung gezeigt werden [89]. Im Rahmen unserer Arbeit wurden IFN-Therapieversager mit intravenösem Silibinin auf PEG-IFN-RBV-Basis erfolgreich behandelt. Dabei konnten die Transaminasen als Marker der Inflammation zügig normalisiert und die Viruslast exponentiell reduziert werden. Auch eine Silibininmonotherapie erweist sich dabei als vielversprechend [131, 132]. Der Behandlungsrahmen ist aktuell jedoch noch weitgehend unklar, da die dauerhafte Remission erheblich von der Dauer und der täglichen Behandlungsdosis abzuhängen scheint. Zu diesem Aspekt sind zur Zeit leider nur wenige Daten vorhanden [133]. Ein antiviraler Behandlungsversuch mit Silibinin bei Patienten unmittelbar nach Lebertransplantation erwies sich vermutlich aufgrund einer relativ hohen initialen Immunsuppression als ineffektiv und konnte somit nicht empfohlen werden. Nach Erreichen einer stabilen Transplantatfunktion, bei im Vergleich zum Beginn deutlicher leitliniengerechter Reduktion der Immunsuppression,

kann diese Therapieform eine gute alternative Ergänzung zu gängigen Therapien darstellen und aufgrund von nahezu gänzlich fehlenden Nebenwirkungen in Betracht gezogen werden. Um die Frage jedoch hinreichend beantworten zu können, muss sich diese Substanz im Rahmen von prospektiven, randomisierten klinischen Studien bewähren [134].

4. Zusammenfassung

Die Hepatitis-C-Rekurrenz nach Lebertransplantation ist ein aktuell nicht zu vermeidendes und in unterschiedlicher Ausprägung auftretendes Phänomen. Neben bereits bekannten Risikofaktoren epidemiologischer, immunologischer und viraler Natur existieren offensichtlich endogene Modulatoren für den Verlauf der Transplantathepatitis-C und für die antivirale Behandlung. Enzyme, Zytokine und Wachstumsfaktoren des Matrixmetabolismus und der antiviralen Abwehr spielen hierbei in höchst individuellem Maße eine wesentliche Rolle. Die genetischen Variationen dieser Systeme sog. Polymorphismen bedingen die unterschiedliche Ausprägung ihrer Funktionalität und somit das Ausmaß der HCV-assoziierten Leberschädigung i.S. der Inflammation und Fibrosebildung sowie die individuelle Fähigkeit der HCV-Elimination unter der Interferontherapie. Die Relevanz dieser Variationen erstreckt sich über den gesamten Verlauf der HCV-induzierten Lebererkrankung sowohl vor der Lebertransplantation einschließlich der HCV-assoziierten Karzinogenese als auch nach der Lebertransplantation als Rekurrenz der Grunderkrankung. Im Rahmen der vorliegenden Arbeiten wurden signifikante Assoziationen der MBL-2- und IL28B-Genpolymorphismen mit der Entwicklung eines HCV-assoziierten hepatozellulären Karzinoms anhand der histologischen Untersuchungen der explantierten Lebern identifiziert. Im Kontext der HCV-Rekurrenz fanden sich signifikante Assoziationen der polymorph vorliegenden Gene von TGF- β 1, YKL-40 und STAT-4 des Empfängers mit fortgeschrittenen Fibrosestadien und Fibroseprogression. Von besonderer Bedeutung hierbei war die genaueste Charakterisierung des untersuchten Kollektivs unter Zuhilfenahme einer einheitlichen Fibrosedefinition und einheitlicher Leberbiopsien gemäß einem definierten Nachsorgeprotokoll nach Lebertransplantation. Ferner wurde die Assoziation der IL28B-Genpolymorphismen mit der histologischen Schwere der HCV-Rekurrenz und der Ansprechrate auf die Interferontherapie identifiziert. Diese Entdeckung besitzt auf dem Gebiet der antiviralen Therapie eine prognostische Bedeutung und wird zumindest im nichttransplantierten Bereich bei der Durchführung der Behandlung bereits als Diagnostikum verwendet. Diese Erkenntnis kann auch bei Patienten mit HCV-Rekurrenz nach Lebertransplantation angewendet werden. Berücksichtigt man den

aktuell eingeschränkten Behandlungserfolg mit Interferonen, so kann der Einsatz von Silibinin allein oder als Kombinationstherapie bei ausgewählten Patienten durchaus als eine sinnvolle therapeutische Alternative in Betracht gezogen werden.

Endogene Faktoren modulieren ebenfalls die Inzidenz einer akuten zellulären Rejektion nach Lebertransplantation. Im Rahmen der vorliegenden Arbeiten konnten signifikante Assoziationen der Empfängerpolymorphismen der YKL-40- und MBL-2-Gene mit der Entwicklung einer akuten Rejektion gezeigt werden. Darüber hinaus haben die Varianten des TGF- β 1-Gens des Empfängers einen signifikanten Einfluss auf die Entwicklung von Sekundärorganschäden i.S. einer CNI-induzierten Niereninsuffizienz nach Lebertransplantation.

Die Identifikation von genetischen Risikofaktoren für die Entwicklung von HCV-assoziierten Leber- und Transplantaterkrankungen dient nicht nur einem besseren Verständnis der Pathogenese bestimmter Prozesse vor und nach Lebertransplantation, vielmehr ergänzen diese Erkenntnisse das bestehende diagnostische Instrumentarium und verleihen somit eine Möglichkeit zur Anpassung der Immunsuppression, der Auswahl und Individualisierung der antiviralen Therapie, sowie der Früherkennung der Kanzerogenese und des Auftretens von Sekundärschäden mit dem Ziel der Optimierung des Transplantationserfolgs.

5. Literaturangaben

1. Gravitz L. Introduction: a smouldering public-health crisis. *Nature*;2011;474:2-4.
2. Perz JF, Armstrong GL, Farrington LA, Hutin YJ, Bell BP. The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections to cirrhosis and primary liver cancer worldwide. *J Hepatol* 2006;45:529-538.
3. Chisari FV. Unscrambling hepatitis C virus-host interactions. *Nature* 2005;436:930-932.
4. Schuppan D, Krebs A, Bauer M, Hahn EG. Hepatitis C and liver fibrosis. *Cell Death Differ* 2003;10 Suppl 1:S59-67.
5. Powell EE, Edwards-Smith CJ, Hay JL, Clouston AD, Crawford DH, Shorthouse C et al. Host genetic factors influence disease progression in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2000;31:828-833.
6. Bahr MJ, el Menuawy M, Boeker KH, Musholt PB, Manns MP, Lichtinghagen R. Cytokine gene polymorphisms and the susceptibility to liver cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Liver Int* 2003;23:420-425.
7. Pereira FA, Pinheiro da Silva NN, Rodart IF, Carmo TM, Lemaire DC, Reis MG. Association of TGF-beta1 codon 25 (G915C) polymorphism with hepatitis C virus infection. *J Med Virol* 2008;80:58-64.
8. Segat L, Fabris A, Padovan L, Milanese M, Pirulli D, Lupo F et al. MBL2 and MASP2 gene polymorphisms in patients with hepatocellular carcinoma. *J Viral Hepat* 2008;15:387-391.
9. Iadonato SP, Katze MG. Genomics: Hepatitis C virus gets personal. *Nature* 2009;461:357-358.
10. Liang TJ, Ghany MG. Current and future therapies for hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*;2013;368:1907-1917.
11. Terrault NA. Hepatitis C therapy before and after liver transplantation. *Liver Transpl* 2008;14 Suppl 2:S58-66.
12. Gane EJ, Portmann BC, Naoumov NV, Smith HM, Underhill JA, Donaldson PT et al. Long-term outcome of hepatitis C infection after liver transplantation. *N Engl J Med* 1996;334:815-820.
13. Roche B, Sebagh M, Canfora ML, Antonini T, Roque-Afonso AM, Delvart V et al. Hepatitis C virus therapy in liver transplant recipients: response predictors, effect on fibrosis progression, and importance of the initial stage of fibrosis. *Liver Transpl* 2008;14:1766-1777.

14. Neumann UP, Berg T, Bahra M, Seehofer D, Langrehr JM, Neuhaus R et al. Fibrosis progression after liver transplantation in patients with recurrent hepatitis C. *J Hepatol* 2004;41:830-836.
15. Accapezzato D, Francavilla V, Paroli M, Casciaro M, Chircu LV, Cividini A et al. Hepatic expansion of a virus-specific regulatory CD8(+) T cell population in chronic hepatitis C virus infection. *J Clin Invest* 2004;113:963-972.
16. Weston SJ, Leistikow RL, Reddy KR, Torres M, Wertheimer AM, Lewinsohn DM et al. Reconstitution of hepatitis C virus-specific T-cell-mediated immunity after liver transplantation. *Hepatology* 2005;41:72-81.
17. Forman LM, Lewis JD, Berlin JA, Feldman HI, Lucey MR. The association between hepatitis C infection and survival after orthotopic liver transplantation. *Gastroenterology* 2002;122:889-896.
18. Neumann UP, Berg T, Bahra M, Puhl G, Guckelberger O, Langrehr JM et al. Long-term outcome of liver transplants for chronic hepatitis C: a 10-year follow-up. *Transplantation* 2004;77:226-231.
19. Berenguer M. Recurrent allograft disease: viral hepatitis. *Acta Gastroenterol Belg* 2005;68:337-346.
20. Prieto M, Berenguer M, Rimola A, Loinaz C, Barrios C, Clemente G et al. Liver transplantation in hepatitis C. A Spanish multi-centre experience. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998;10:771-776.
21. Friedman SL. Molecular mechanisms of hepatic fibrosis and principles of therapy. *J Gastroenterol* 1997;32:424-430.
22. Friedman SL. Stellate cells: a moving target in hepatic fibrogenesis. *Hepatology* 2004;40:1041-1043.
23. Berenguer M. Natural history of recurrent hepatitis C. *Liver Transpl* 2002;8:S14-18.
24. Schuppan D, Ruehl M, Somasundaram R, Hahn EG. Matrix as a modulator of hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 2001;21:351-372.
25. Friedman SL. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. The cellular basis of hepatic fibrosis. Mechanisms and treatment strategies. *N Engl J Med* 1993;328:1828-1835.
26. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000;275:2247-2250.
27. Ramadori G, Knittel T, Saile B. Fibrosis and altered matrix synthesis. *Digestion* 1998;59:372-375.
28. Knittel T, Saile B, Ramadori G. [Fibrogenesis. Pathophysiology and therapeutic approaches]. *Internist (Berl)* 1998;39:238-246.

29. Herbst H, Schuppan D, Milani S. [Fibrogenesis and fibrolysis in the liver]. *Verh Dtsch Ges Pathol* 1995;79:15-27.
30. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994;19:1513-1520.
31. Saliba F, Lakehal M, Pageaux GP, Roche B, Vanlemmens C, Duvoux C et al. Risk factors for new-onset diabetes mellitus following liver transplantation and impact of hepatitis C infection : an observational multicenter study. *Liver Transpl* 2007;13:136-144.
32. Shuhart MC, Bronner MP, Gretch DR, Thomassen LV, Wartelle CF, Tateyama H et al. Histological and clinical outcome after liver transplantation for hepatitis C. *Hepatology* 1997;26:1646-1652.
33. Goldin RD, Goldin JG, Burt AD, Dhillon PA, Hubscher S, Wyatt J et al. Intra-observer and inter-observer variation in the histopathological assessment of chronic viral hepatitis. *J Hepatol* 1996;25:649-654.
34. Cescon M, Grazi GL, Cucchetti A, Vetrone G, Ravaioli M, Ercolani G et al. Predictors of sustained virological response after antiviral treatment for hepatitis C recurrence following liver transplantation. *Liver Transpl* 2009;15:782-789.
35. Neumann UP, Neuhaus P. Course and treatment of recurrent Hepatitis C after liver transplantation. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2004;50:61-66.
36. Brady DE, Torres DM, An JW, Ward JA, Lawitz E, Harrison SA. Induction pegylated interferon alfa-2b in combination with ribavirin in patients with genotypes 1 and 4 chronic hepatitis C: a prospective, randomized, multicenter, open-label study. *Clin Gastroenterol Hepatol*;2010;8:66-71 e61.
37. Burra P, Targhetta S, Pevero S, Boninsegna S, Guido M, Canova D et al. Antiviral therapy for hepatitis C virus recurrence following liver transplantation: long-term results from a single center experience. *Transplant Proc* 2006;38:1127-1130.
38. Everson GT, Kulig CC. Antiviral therapy for hepatitis C in the setting of liver transplantation. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2006;9:520-529.
39. Samuel D, Bizollon T, Feray C, Roche B, Ahmed SN, Lemonnier C et al. Interferon-alpha 2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C after liver transplantation: a randomized study. *Gastroenterology* 2003;124:642-650.
40. Bahra M, Neumann UP, Jacob D, Berg T, Neuhaus R, Langrehr JM et al. Outcome after liver re-transplantation in patients with recurrent chronic hepatitis C. *Transpl Int* 2007;20:771-778.

41. Cicinnati VR, Iacob S, Klein CG, Baba HA, Sotiropoulos GC, Hilgard P et al. Ribavirin with either standard or pegylated interferon to treat recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26:291-303.
42. Lange CM. The importance of IL28B genotype in hepatitis C virus-associated liver transplantation. *Liver Int* 2013;33:169-171.
43. Welsch C, Zeuzem S. Will interferon-free regimens prevail? *Gastroenterology* 2012;142:1351-1355.
44. Bahra M, Neumann UP, Jacob D, Langrehr JM, Berg T, Neuhaus R et al. Fibrosis progression in hepatitis C positive liver recipients after sustained virologic response to antiviral combination therapy (interferon-ribavirin therapy). *Transplantation* 2007;83:351-353.
45. Zimmermann T, Otto C, Hoppe-Lotichius M, Biesterfeld S, Lautem A, Knaak M et al. Risk factors in patients with rapid recurrent hepatitis C virus-related cirrhosis within 1 year after liver transplantation. *Transplant Proc* 2009;41:2549-2556.
46. Meyer UA. The molecular basis of genetic polymorphisms of drug metabolism. *J Pharm Pharmacol* 1994;46 Suppl 1:409-415.
47. Lake JR, Shorr JS, Steffen BJ, Chu AH, Gordon RD, Wiesner RH. Differential effects of donor age in liver transplant recipients infected with hepatitis B, hepatitis C and without viral hepatitis. *Am J Transplant* 2005;5:549-557.
48. Bahra M, Jacob D, Neumann UP, Spies F, Langrehr JM, Berg T et al. Influence of donor histology on outcome in patients undergoing transplantation for hepatitis C. *Transplantation* 2007;84:144-148.
49. Shackel NA, Jamias J, Rahman W, Prakoso E, Strasser SI, Koorey DJ et al. Early high peak hepatitis C viral load levels independently predict hepatitis C-related liver failure post-liver transplantation. *Liver Transpl* 2009;15:709-718.
50. Kaplowitz N. Biochemical and cellular mechanisms of toxic liver injury. *Semin Liver Dis* 2002;22:137-144.
51. Gayowski T, Singh N, Marino IR, Vargas H, Wagener M, Wannstedt C et al. Hepatitis C virus genotypes in liver transplant recipients: impact on posttransplant recurrence, infections, response to interferon-alpha therapy and outcome. *Transplantation* 1997;64:422-426.
52. Prieto M, Berenguer M, Rayon JM, Cordoba J, Arguello L, Carrasco D et al. High incidence of allograft cirrhosis in hepatitis C virus genotype 1b infection following transplantation: relationship with rejection episodes. *Hepatology* 1999;29:250-256.

53. Roche B, Samuel D. Risk factors for hepatitis C recurrence after liver transplantation. *J Viral Hepat* 2007;14 Suppl 1:89-96.
54. Pollard S. Calcineurin inhibition and disease recurrence in the hepatitis C virus-positive liver transplant recipient. *Liver Int* 2004;24:402-406.
55. Lake JR. The role of immunosuppression in recurrence of hepatitis C. *Liver Transpl* 2003;9:S63-66.
56. Bahra M, Neumann UP, Jacob D, Puhl G, Klupp J, Langrehr JM et al. MMF and calcineurin taper in recurrent hepatitis C after liver transplantation: impact on histological course. *Am J Transplant* 2005;5:406-411.
57. Zervos XA, Wepler D, Fragulidis GP, Torres MB, Nery JR, Khan MF et al. Comparison of tacrolimus with neoral as primary immunosuppression in hepatitis C patients after liver transplantation. *Transplant Proc* 1998;30:1405-1406.
58. Kniepeiss D, Iberer F, Grasser B, Schaffellner S, Tscheliessnigg KH. Sirolimus and mycophenolate mofetil after liver transplantation. *Transpl Int* 2003;16:504-509.
59. Asthana S, Toso C, Meeberg G, Bigam DL, Mason A, Shapiro J et al. The impact of sirolimus on hepatitis C recurrence after liver transplantation. *Can J Gastroenterol* 2011;25:28-34.
60. Gane EJ, Naoumov NV, Qian KP, Mondelli MU, Maertens G, Portmann BC et al. A longitudinal analysis of hepatitis C virus replication following liver transplantation. *Gastroenterology* 1996;110:167-177.
61. Regev A, Molina E, Moura R, Bejarano PA, Khaled A, Ruiz P et al. Reliability of histopathologic assessment for the differentiation of recurrent hepatitis C from acute rejection after liver transplantation. *Liver Transpl* 2004;10:1233-1239.
62. Fiane AE, Ueland T, Simonsen S, Scott H, Endresen K, Gullestad L et al. Low mannose-binding lectin and increased complement activation correlate to allograft vasculopathy, ischaemia, and rejection after human heart transplantation. *Eur Heart J* 2005;26:1660-1665.
63. Fildes JE, Shaw SM, Walker AH, McAlindon M, Williams SG, Keevil BG et al. Mannose-binding lectin deficiency offers protection from acute graft rejection after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2008;27:1353-1356.
64. Fiore CE, Pennisi P, Tamborino C. YKL-40 and graft rejection. *Am J Med* 2000;108:688-689.
65. Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kurosaki M, Matsuura K, Sakamoto N et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009;41:1105-1109.

66. Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G, Berg T, Weltman M, Abate ML et al. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet* 2009;41:1100-1104.
67. Gomez-Mateo J, Marin L, Lopez-Alvarez MR, Moya-Quiles MR, Miras M, Marin-Moreno I et al. TGF-beta1 gene polymorphism in liver graft recipients. *Transpl Immunol* 2006;17:55-57.
68. Ben-Ari Z, Pappo O, Druzd T, Sulkes J, Klein T, Samra Z et al. Role of cytokine gene polymorphism and hepatic transforming growth factor beta1 expression in recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Cytokine* 2004;27:7-14.
69. Ben-Ari Z. Role of cytokine gene polymorphism in recurrent HCV infection after liver transplantation. *Liver Transpl* 2006;12:1723-1724.
70. Platz KP, Mueller AR, Blumhardt G, Bachmann S, Bechstein WO, Kahl A et al. Nephrotoxicity following orthotopic liver transplantation. A comparison between cyclosporine and FK506. *Transplantation* 1994;58:170-178.
71. Ojo AO, Held PJ, Port FK, Wolfe RA, Leichtman AB, Young EW et al. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *N Engl J Med* 2003;349:931-940.
72. Bennett WM. Insights into chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1996;34:515-519.
73. Kong X, Horiguchi N, Mori M, Gao B. Cytokines and STATs in Liver Fibrosis. *Front Physiol* 2012;3:69.
74. Gao B. Cytokines, STATs and liver disease. *Cell Mol Immunol* 2005;2:92-100.
75. Wang N, Yang CG, Sun ZZ, Wang XL, Chen SL. Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) homologue in turbot (*Scophthalmus maximus*): molecular characterization and expression analysis. *Fish Shellfish Immunol* 2011;30:255-262.
76. Kato A, Graul-Layman A, Edwards MJ, Lentsch AB. Promotion of hepatic ischemia/reperfusion injury by IL-12 is independent of STAT4. *Transplantation* 2002;73:1142-1145.
77. Shen XD, Ke B, Zhai Y, Gao F, Anselmo D, Lassman CR et al. Stat4 and Stat6 signaling in hepatic ischemia/reperfusion injury in mice: HO-1 dependence of Stat4 disruption-mediated cytoprotection. *Hepatology* 2003;37:296-303.
78. Johansen JS. Studies on serum YKL-40 as a biomarker in diseases with inflammation, tissue remodelling, fibroses and cancer. *Dan Med Bull* 2006;53:172-209.
79. Schiavon LL, Narciso-Schiavon JL, Carvalho Filho RJ, Sampaio JP, Medina-Pestana JO, Lanzoni VP et al. Serum levels of YKL-40 and hyaluronic acid as

- noninvasive markers of liver fibrosis in haemodialysis patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 2008;15:666-674.
80. Oh S, Afdhal NH. Hepatic fibrosis: are any of the serum markers useful? *Curr Gastroenterol Rep* 2001;3:12-18.
 81. Fontana RJ, Bonkovsky HL, Naishadham D, Dienstag JL, Sterling RK, Lok AS et al. Serum fibrosis marker levels decrease after successful antiviral treatment in chronic hepatitis C patients with advanced fibrosis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:219-226.
 82. Berres ML, Papen S, Pauels K, Schmitz P, Zaldivar MM, Hellerbrand C et al. A functional variation in CHI3L1 is associated with severity of liver fibrosis and YKL-40 serum levels in chronic hepatitis C infection. *J Hepatol* 2009;50:370-376.
 83. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009;461:399-401.
 84. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, Qi Y, Ge D, O'Huigin C et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature* 2009;461:798-801.
 85. Huang H, Shiffman ML, Friedman S, Venkatesh R, Bzowej N, Abar OT et al. A 7 gene signature identifies the risk of developing cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2007;46:297-306.
 86. Marcolongo M, Young B, Dal Pero F, Fattovich G, Peraro L, Guido M et al. A seven-gene signature (cirrhosis risk score) predicts liver fibrosis progression in patients with initially mild chronic hepatitis C. *Hepatology* 2009;50:1038-1044.
 87. Charlton MR, Thompson A, Veldt BJ, Watt K, Tillmann H, Poterucha JJ et al. Interleukin-28B polymorphisms are associated with histological recurrence and treatment response following liver transplantation in patients with hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2011;53:317-324.
 88. Eurich D, Boas-Knoop S, Ruehl M, Schulz M, Carrillo ED, Berg T et al. Relationship between the interleukin-28b gene polymorphism and the histological severity of hepatitis C virus-induced graft inflammation and the response to antiviral therapy after liver transplantation. *Liver Transpl* 2011;17:289-298.
 89. Ferenci P, Scherzer TM, Kerschner H, Rutter K, Beinhardt S, Hofer H et al. Silibinin is a potent antiviral agent in patients with chronic hepatitis C not responding to pegylated interferon/ribavirin therapy. *Gastroenterology* 2008;135:1561-1567.

90. Schumann J, Prockl J, Kiemer AK, Vollmar AM, Bang R, Tiegs G. Silibinin protects mice from T cell-dependent liver injury. *J Hepatol* 2003;39:333-340.
91. Gazak R, Sedmera P, Vrbacky M, Vostalova J, Drahota Z, Marhol P et al. Molecular mechanisms of silybin and 2,3-dehydrosilybin antiradical activity--role of individual hydroxyl groups. *Free Radic Biol Med* 2009;46:745-758.
92. Trappoliere M, Caligiuri A, Schmid M, Bertolani C, Failli P, Vizzutti F et al. Silybin, a component of silymarin, exerts anti-inflammatory and anti-fibrogenic effects on human hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2009;50:1102-1111.
93. Boigk G, Stroedter L, Herbst H, Waldschmidt J, Riecken EO, Schuppan D. Silymarin retards collagen accumulation in early and advanced biliary fibrosis secondary to complete bile duct obliteration in rats. *Hepatology* 1997;26:643-649.
94. Worthley DL, Johnson DF, Eisen DP, Dean MM, Heatley SL, Tung JP et al. Donor mannose-binding lectin deficiency increases the likelihood of clinically significant infection after liver transplantation. *Clin Infect Dis* 2009;48:410-417.
95. Larsen F, Madsen HO, Sim RB, Koch C, Garred P. Disease-associated mutations in human mannose-binding lectin compromise oligomerization and activity of the final protein. *J Biol Chem* 2004;279:21302-21311.
96. Butler GS, Sim D, Tam E, Devine D, Overall CM. Mannose-binding lectin (MBL) mutants are susceptible to matrix metalloproteinase proteolysis: potential role in human MBL deficiency. *J Biol Chem* 2002;277:17511-17519.
97. Bataller R. [Genetic polymorphisms and liver diseases]. *Gastroenterol Hepatol* 2003;26:307-309.
98. Mas VR, Fisher RA, Maluf DG, Archer KJ, Contos MJ, Mills SA et al. Polymorphisms in cytokines and growth factor genes and their association with acute rejection and recurrence of hepatitis C virus disease in liver transplantation. *Clin Genet* 2004;65:191-201.
99. Kilpatrick DC, Delahooke TE, Koch C, Turner ML, Hayes PC. Mannan-binding lectin and hepatitis C infection. *Clin Exp Immunol* 2003;132:92-95.
100. Brown KS, Ryder SD, Irving WL, Sim RB, Hickling TP. Mannan binding lectin and viral hepatitis. *Immunol Lett* 2007;108:34-44.
101. Brown KS, Keogh MJ, Tagiuri N, Grainge MJ, Presanis JS, Ryder SD et al. Severe fibrosis in hepatitis C virus-infected patients is associated with increased activity of the mannan-binding lectin (MBL)/MBL-associated serine protease 1 (MASP-1) complex. *Clin Exp Immunol* 2007;147:90-98.
102. Halla MC, do Carmo RF, Silva Vasconcelos LR, Pereira LB, Moura P, de Siqueira ER et al. Association of hepatitis C virus infection and liver fibrosis

- severity with the variants alleles of MBL2 gene in a Brazilian population. *Hum Immunol* 2010;71:883-887.
103. Fabris C, Falletti E, Cussigh A, Bitetto D, Fontanini E, Bignulin S et al. IL-28B rs12979860 C/T allele distribution in patients with liver cirrhosis: role in the course of chronic viral hepatitis and the development of HCC. *J Hepatol*;54:716-722.
 104. Banff schema for grading liver allograft rejection: an international consensus document. *Hepatology* 1997;25:658-663.
 105. Eurich D, Neumann UP, Boas-Knoop S, Neuhaus R, Kiessling A, Yahyazadeh A et al. YKL-40-gene polymorphism affects acute cellular rejection and fibrosis progression after transplantation for hepatitis C virus-induced liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2013;28:153-160.
 106. Eurich D, Boas-Knoop S, Yahyazadeh A, Neuhaus R, Somasundaram R, Ruehl M et al. Role of mannose-binding lectin-2 polymorphism in the development of acute cellular rejection after transplantation for hepatitis C virus-induced liver disease. *Transpl Infect Dis* 2012;14:488-495.
 107. Berger SP, Roos A, Mallat MJ, Fujita T, de Fijter JW, Daha MR. Association between mannose-binding lectin levels and graft survival in kidney transplantation. *Am J Transplant* 2005;5:1361-1366.
 108. Stickel F, Hampe J. Genetic determinants of alcoholic liver disease. *Gut*;61:150-159.
 109. Tambur AR, Ortelgel JW, Ben-Ari Z, Shabtai E, Klein T, Michowiz R et al. Role of cytokine gene polymorphism in hepatitis C recurrence and allograft rejection among liver transplant recipients. *Transplantation* 2001;71:1475-1480.
 110. Eurich D, Bahra M, Boas-Knoop S, Lock JF, Golembus J, Neuhaus R et al. Transforming growth factor beta1 polymorphisms and progression of graft fibrosis after liver transplantation for hepatitis C virus-induced liver disease. *Liver Transpl* 2011;17:279-288.
 111. Kurosaki M, Tanaka Y, Nishida N, Sakamoto N, Enomoto N, Honda M et al. Pre-treatment prediction of response to pegylated-interferon plus ribavirin for chronic hepatitis C using genetic polymorphism in IL28B and viral factors. *J Hepatol* 2011;54:439-448.
 112. Eurich D, Boas-Knoop S, Bahra M, Neuhaus R, Somasundaram R, Neuhaus P et al. Role of IL28B polymorphism in the development of hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma, graft fibrosis, and posttransplant antiviral therapy. *Transplantation* 2012;93:644-649.

113. Hove WR, van Hoek B, Bajema IM, Ringers J, van Krieken JH, Lagaaij EL. Extensive chimerism in liver transplants: vascular endothelium, bile duct epithelium, and hepatocytes. *Liver Transpl* 2003;9:552-556.
114. Moroso V, Metselaar HJ, Mancham S, Tilanus HW, Eissens D, van der Meer A et al. Liver grafts contain a unique subset of natural killer cells that are transferred into the recipient after liver transplantation. *Liver Transpl* 2010;16:895-908.
115. Peng WJ, Pan HF, Tao JH, Wang BX, Lu MM, Wang S et al. A meta-analysis of the association between cytokine gene polymorphisms and systemic sclerosis. *Mod Rheumatol* 2012;22:695-703.
116. Liang YL, Wu H, Shen X, Li PQ, Yang XQ, Liang L et al. Association of STAT4 rs7574865 polymorphism with autoimmune diseases: a meta-analysis. *Mol Biol Rep* 2012;39:8873-8882.
117. Eurich D, Boas-Knoop S, Struecker B, Neuhaus R, Neuhaus PBahra M. Genetic variants of STAT-4 affect the development of graft fibrosis after liver transplantation for HCV-induced liver disease. *Transplantation* 2013;95:203-208.
118. do O N, Eurich D, Schmitz P, Schmeding M, Heidenhain C, Bahra M et al. A 7-gene signature of the recipient predicts the progression of fibrosis after liver transplantation for hepatitis C virus infection. *Liver Transpl* 2012;18:298-304.
119. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology* 2004;127:1704-1713.
120. Pungpapong S, Nunes DP, Krishna M, Nakhleh R, Chambers K, Ghabril M et al. Serum fibrosis markers can predict rapid fibrosis progression after liver transplantation for hepatitis C. *Liver Transpl* 2008;14:1294-1302.
121. Mihatsch MJ, Kyo M, Morozumi K, Yamaguchi Y, Nিকেleit V, Ryffel B. The side-effects of ciclosporine-A and tacrolimus. *Clin Nephrol* 1998;49:356-363.
122. Campistol JM, Sacks SH. Mechanisms of nephrotoxicity. *Transplantation* 2000;69:5-10.
123. Eurich D, Neumann UP, Boas-Knoop S, Neuhaus R, Bahra M, Neuhaus P et al. Transforming growth factor-beta1-gene polymorphism in the development of kidney disease after liver transplantation. *Transplantation* 2012;93:555-560.
124. van de Wetering J, Weimar CH, Balk AH, Roodnat JI, Holweg CT, Baan CC et al. The impact of transforming growth factor-beta1 gene polymorphism on end-stage renal failure after heart transplantation. *Transplantation* 2006;82:1744-1748.

125. Terrault NA, Berenguer M. Treating hepatitis C infection in liver transplant recipients. *Liver Transpl* 2006;12:1192-1204.
126. Rauch A, Kutalik Z, Descombes P, Cai T, Di Iulio J, Mueller T et al. Genetic variation in IL28B is associated with chronic hepatitis C and treatment failure: a genome-wide association study. *Gastroenterology* 2010;138:1338-1345,
127. Stickel F, Schuppan D. Herbal medicine in the treatment of liver diseases. *Dig Liver Dis* 2007;39:293-304.
128. Saller R, Meier R, Brignoli R. The use of silymarin in the treatment of liver diseases. *Drugs* 2001;61:2035-2063.
129. Gordon A, Hobbs DA, Bowden DS, Bailey MJ, Mitchell J, Francis AJ et al. Effects of *Silybum marianum* on serum hepatitis C virus RNA, alanine aminotransferase levels and well-being in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 2006;21:275-280.
130. Loguercio C, Federico A, Trappoliere M, Tuccillo C, de Sio I, Di Leva A et al. The effect of a silybin-vitamin e-phospholipid complex on nonalcoholic fatty liver disease: a pilot study. *Dig Dis Sci* 2007;52:2387-2395.
131. Eurich D, Bahra M, Berg T, Boas-Knoop S, Biermer M, Neuhaus R et al. Treatment of hepatitis C-virus-reinfection after liver transplant with silibinin in nonresponders to pegylated interferon-based therapy. *Exp Clin Transplant* 2011;9:1-6.
132. Neumann UP, Biermer M, Eurich D, Neuhaus P, Berg T. Successful prevention of hepatitis C virus (HCV) liver graft reinfection by silibinin mono-therapy. *J Hepatol* 2010;52:951-952.
133. Biermer M, Berg T. Rapid suppression of hepatitis C viremia induced by intravenous silibinin plus ribavirin. *Gastroenterology* 2009;137:390-391.
134. Biermer M, Schlosser B, Fulop B, van Bommel F, Brodzinski A, Heyne R et al. High-dose silibinin rescue treatment for HCV-infected patients showing suboptimal virologic response to standard combination therapy. *J Viral Hepat*;19:547-553.

6. Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Peter Neuhaus, Direktor der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie am Virchow Klinikum, Charité, Berlin für die klinische Ausbildung und für seine stets wohlwollende Unterstützung meiner wissenschaftlichen Tätigkeit.

Mein Dank gilt ebenso Herrn Prof. Dr. med. Ulf Neumann, meinem Mentor vor Antritt des Ordinariats für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie in Aachen, für seine innovativen und herausragenden Ideen auf dem Gebiet der HCV-Forschung.

Herrn PD. Dr. med. Marcus Bahra möchte ich für die Übernahme der Mentorenschaft und für die Fortsetzung der unermüdlichen, konstruktiven und zielgerichteten Betreuung sowie für die Unterstützung bei der klinischen Ausbildung ganz besonders danken.

Ich danke Herrn PD. Dr. med. Daniel Seehofer für seine faire und offene Art der Zusammenarbeit.

Verpflichtet bin ich den Mitarbeitern unseres Studienbüros und unserer LTX-Ambulanz für die Unterstützung bei der Akquisition der klinischen Daten und des Materials für die Untersuchungen.

Herrn Prof. Dr. med. Felix Stickel bin ich für die Einführung in die Fibroseforschung zu meiner Studienzzeit an der Universität Erlangen-Nürnberg verpflichtet.

Für die Erleichterung der Genotypisierungen sei Herrn Prof. Dr. med. Rajan Somasundaram und Herr Dr. Martin Rühl herzlich gedankt.

Ich danke den Kolleginnen und Kollegen unserer Abteilung, die zum Erfolg der vorliegenden Arbeit beigetragen haben.

Besonders danke ich meinen Eltern, meiner Schwester und meiner Frau, Franziska, für die unermüdliche Unterstützung meiner Tätigkeit und das entgegengebrachte Verständnis für meine Arbeit.

7. Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charite

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

.....

Datum

.....

Dr. med. Dennis Eurich