Deutsches Herzzentrum Berlin Abteilung für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie Ärztlicher Direktor: Professor Dr. med. Dr. h. c. mult. Roland Hetzer

Habilitationsschrift

## **Mikrovaskulopathie und Herztransplantation**

zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach Innere Medizin

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité, Universitätsmedizin Berlin

von Dr. med. Nicola E. Hiemann geb. am 25.07.1973 in Berlin

Eingereicht: Dekan: 1. Gutachter: 2. Gutachter: im November 2007 Prof. Dr. med. Martin Paul Prof. Dr. med. Reinhard Kandolf Prof. Dr. med. Paul Mohacsi Widmung

Meinen Eltern

#### Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Dr. h. c. mult. Roland Hetzer, der meine Arbeit stets unterstützt und gefördert hat. Er hat mir nicht nur Freiräume für wissenschaftliche Tätigkeiten geschaffen, sondern hatte auch immer ein offenes Ohr für mich.

Mein herzlicher Dank gilt meinem Mentor Herrn Professor Dr. med. s. c. Rudolf Meyer. Er hat mich die Grundregeln der wissenschaftlichen Praxis in Tat und Schrift gelehrt und stand mir mit seinem hochgeschätzten Rat jederzeit zur Seite. Darüber hinaus danke ich ihm für die Befundung der rechtsventrikulären Biopsieproben und die Etablierung eines erweiterten Befundprotokolls, dass die Beurteilung mikrovaskulärer Veränderungen in den Biopsieproben routinemäßig erfasste und damit die wissenschaftliche Auswertung des Materials ermöglichte.

Meinem Kollegen Herrn Dr. med. Ernst Wellnhofer möchte ich für die produktive Zusammenarbeit bei der Durchführung, Auswertung und Publikation unserer klinischen Studien danken sowie für die Bewertung der koronarangiographischen und Dopplerflussgeschwindigkeitsuntersuchungen und der Untersuchungen mittels des intravaskulären Ultraschalls.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft möchte ich meinen Dank für die finanzielle Unterstützung des Projektes "Risikostratifikation der Transplantatvaskulopathie nach Herztransplantation" (DFG #He 1669/13-1) aussprechen, wodurch die hier genannten retrospektiv erarbeiteten, diagnostischen Kriterien der Transplantatvaskulopathie prospektiv validiert werden konnten. Darüber hinaus gilt mein Dank der Humboldt-Universität zu Berlin, die durch mehrere Anschubfinanzierungen die Vorarbeiten zu der prospektiven Studie ermöglicht hat.

Herzlich danke ich Herrn Professor Dr. med. Wolf Rafflenbeul und Herrn PD Dr. med. Christoph Knosalla für den intellektuellen, Frau Anne Gale für den englischsprachigen sowie Frau Annette Gaußmann für den graphischen Support meiner wissenschaftlichen Publikationen.

Des weiteren möchte ich mich bei den ärztlichen Kollegen des Transplantationsbereichs des Deutschen Herzzentrums Berlin für die klinische Betreuung der hier untersuchten Patienten bedanken. Mein Dank gilt insbesondere Frau Dr. Englert, Herrn Dr. Bettmann und Frau Dr. de la Chevallerie, die unsere Arbeitsgruppensitzungen mit klinischen Details belebt haben und die Ergebnisse der Studienuntersuchungen in das weitere Betreuungsmanagement der Patienten integriert haben.

Den ärztlichen Kollegen der Abteilung für Kardiologie möchte ich meinen Dank aussprechen, die nicht nur die invasive Diagnostik durchgeführt, sondern auch die Biopsieproben entnommen haben, die wesentlicher Bestandteil meiner Arbeiten waren.

Meinen Eltern möchte ich für ihre moralische Unterstützung danken. Sie haben mich durch sämtliche Höhen und Tiefen begleitet und standen mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite.

#### Inhaltsverzeichnis

I.	Transplantatvaskulopathie nach Herztransplantation8
1.1	Begriffsbestimmung8
1.2	Morphologie10
1.3	Kausale Pathogenese15
1.4	Formale Pathogenese
1.5	Diagnose
1.5.1	Terminale Strombahn
1.5.2	Epikardiale Koronararterien24
1.6	Therapie
11.	Retrospektive Untersuchungen zur Mikrovaskulopathie nach HTx
2.1	Ziele
2.2	Patienten
2.3	Methoden
2.3.1	Biopsiegewinnung und histologische Aufbereitung
2.3.2	Diagnose der Mikrovaskulopathie
2.3.3	Diagnose des Quilty-Phänomens
2.3.4	Diagnose akuter zellulärer Rejektionen
2.3.5	Definition der epikardialen Transplantatvaskulopathie
2.3.6	Statistik
2.4	Ergebnisse
2.4.1	Prävalenz bioptischer Veränderungen35
2.4.2	Prävalenz der stenosierenden TVP in der Koronarangiographie
2.4.3	Einfluss der Mikrovaskulopathie auf das Langzeitüberleben nach Herztransplantation35
2.4.4	Einfluss der Mikrovaskulopathie auf das Auftreten kardialer Todesfälle
2.4.5	Die Bedeutung des Quilty für den klinischen Verlauf der stenosierenden
	Mikrovaskulopathie40
2.4.6	Die Mikrovaskulopathie beeinträchtigt nicht die günstigere Prognose von Frauen nach
	Herztransplantation42
2.4.6.1	Klinische Charakterisierung der männlichen und weiblichen Patientenpopulation42
2.4.6.2	Prävalenz mikrovaskulärer Veränderungen bei männlichen und weiblichen
	Transplantatempfängern43
2.4.6.3	Prävalenz mikrovaskulärer Veränderungen im Hinblick auf Geschlechter-Match und
	Missmatch44
2.4.6.4	Fatale kardiale Ereignisse bei Männern und Frauen mit stenosierender
	Mikrovaskulopathie45
2.5	Risikofaktoren für die Entwicklung einer Mikrovaskulopathie nach Herztransplantation48
2.5.1	Klinische Charakteristika der Patienten mit und ohne stenosierende Mikrovaskulopathie48
2.5.2	Risikofaktoren für die Entwicklung einer stenosierenden Mikrovaskulopathie

2.6	Diskussion der retrospektiven Untersuchungen	54
2.6.1	Einfluss der Mikrovaskulopathie auf das Langzeitüberleben nach Herztransplantation	54
2.6.2	Die Bedeutung des Quilty für den klinischen Verlauf der stenosierenden	
	Mikrovaskulopathie	55
2.6.3	Die Mikrovaskulopathie beeinträchtigt nicht die günstigere Prognose von Frauen nach	
	Herztransplantation	56
2.6.4	Risikofaktoren für die Entwicklung einer Mikrovaskulopathie nach Herztransplantation	58
2.6.5	Studienlimitationen	60
III.	Prospektive Untersuchungen zur Mikrovaskulopathie nach HTx	61
3.1	Ziele	61
3.2	Patienten und Studiendesign	61
3.3	Immunsuppression	62
3.4	Methoden	63
3.4.1	Koronarangiographie, IVUS und Gefäßfunktionsteste	63
3.4.2	Histologische, histomorphometrische und immunhistochemische Untersuchungen	66
3.4.3	Molekularbiologische Untersuchungen zur Detektion viraler Genome	67
3.4.4	Zytoimmunologisches Monitoring	67
3.4.5	Weitere serologische Untersuchungen	68
3.4.6	Spiroergometrie und klinischer Status	68
3.4.7	Statistik	69
3.4.8	Synopsis diagnostischer Untersuchungen und ätiopathogenetischer Überlegungen zur	
	Transplantatvaskulopathie	70
3.5	Ergebnisse	71
3.5.1	Patienten	71
3.5.2	Koronarangiographische Untersuchungen	72
3.5.3	Gefäßfunktionsteste	73
3.5.4	Intravaskuläre Ultraschalluntersuchungen	74
3.5.5	Histologische Untersuchungen der terminalen Strombahn	75
3.5.6	Histomorphometrische Untersuchungen	77
3.5.7	Molekularbiologische Untersuchungen viraler Genome	77
3.5.8	Zytoimmunologisches Monitoring	79
3.5.9	Lipidstatus	79
3.5.10	Thrombozytenaggregationstests und Thrombelastogramme	80
3.5.11	Akute-Phasen Proteine	81
3.5.12	NT-pro-BNP und CMV-pp65	81
3.5.13	Spiroergometrie, klinischer Status und Medikation	82
3.6	Funktionelle Bedeutung der bioptischen Befunde der terminalen Strombahn	83
3.7	Bedeutung der bioptischen Befunde der terminalen Strombahn für das	
	endomyokardiale Remodelling	88

3.8	Beziehungen zwischen morphologischen Erscheinungsformen im mikrovaskulären und
	epikardialen Strombett
3.9	Risikofaktoren für die Entwicklung mikrovaskulärer Veränderungen nach
	Herztransplantation
3.10	Risikofaktoren für die Entwicklung generalisierter Blutgefäßveränderungen nach
	Herztransplantation
3.11	Diskussion
3.11.1	Funktionelle Bedeutung der bioptischen Befunde der terminalen Strombahn
3.11.2	Bedeutung der bioptischen Befunde der terminalen Strombahn für das
	endomyokardiale Remodelling127
3.11.3	Beziehungen zwischen morphologischen Erscheinungsformen im mikrovaskulären und
	epikardialen Strombett
3.11.4	Risikofaktoren für die Entwicklung mikrovaskulärer und generalisierter
	Blutgefäßveränderungen nach Herztransplantation132
IV.	Zusammenfassung der Ergebnisse und klinische Implikationen 140
V.	Literaturverzeichnis
VI.	Eidesstattliche Versicherung 167

## Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin Converting Enzyme
Bx	rechtsventrikuläre Endomyokardbiopsieprobe
CD	Cluster of Differentiation
CMV	Zytomegalievirus
F	French
HELP	Heparin-binding Extracorporeal LDL-Precipitation
HLA	Human Leukocyte Antigen
HTx	Herztransplantation
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule-1
IMEG	intramyokardiales EKG
ISHLT	International Society for Heart and Lung Transplantation
IVUS	intravaskulärer Ultraschall
KG	Körpergewicht
КНК	koronare Herzkrankheit
PCR	Polymerasekettenreaktion
PDGF	Platelet-derived Growth Factor
R.	Ramus
SMC	glatte Muskelzellen
TNF	Tumor Necrosis Factor
TGF	Transforming Growth Factor
ТРА	tissue Plasminogen Activator
TVP	Transplantatvaskulopathie
VCAM-1	Vascular Adhesion Molecule-1

### I. Transplantatvaskulopathie nach Herztransplantation

#### **1.1 Begriffsbestimmung**

Bereits im Jahre 1968 wurde über nach Herztransplantation (HTx) sich neu entwickelnde vaskuläre Veränderungen im Transplantat berichtet,<sup>1</sup> die bis heute eine Hauptursache für das Versagen des neuen Organs im Langzeitverlauf darstellen. Diese Blutgefäßveränderungen zeichnen sich durch architektonische Umbauprozesse im gesamten koronaren Strombett aus, die auf eine Störung der regelnden Funktion der Endothelzellen mit konsekutiver Proliferation vaskulärer glatter Muskelzellen zurückzuführen sind. Sie entwickeln sich hinsichtlich ihrer Ausprägung, ihrem Manifestationsort und Manifestationszeitpunkt nach HTx nicht homogen und können sogar durch Bilder "klassischer Arterienveränderungen", wie sie in nicht-transplantierten Herzen zu finden sind, maskiert werden. Im Endstadium führen sie durch eine Minderperfusion des Gewebes zu einer chronischen und/oder akuten Ischämie des transplantierten Organs.<sup>2-4</sup>

Davon abzugrenzen sind Herzkranzgefäßveränderungen, die sich infolge einer HTx bei allen Patienten entwickeln und primär einen "biologischen" bzw. adaptiven Prozess darstellen.<sup>5-8</sup> Ob und in welchem Ausmaß diese "transplantationsassoziierten" Blutgefäßveränderungen Krankheitswert erlangen und die Myokardfunktion und das Transplantatüberleben beeinträchtigen ist unbekannt.

Obwohl herztransplantierte Patienten regelmäßig untersucht werden, stehen bis heute keine ausreichenden Möglichkeiten zur Verfügung, um in einem Untersuchungsgang vaskuläre Veränderungen im transplantierten Organ sicher und frühzeitig zu diagnostizieren. Trotzdem die Ausdehnung der Veränderungen auf das gesamte koronare Flussbett gesichert ist, wurde bislang kein Versuch unternommen, ein geeignetes diagnostisches Handwerkszeug für den Befall der terminalen Strombahn zu entwickeln. Hinzu kommt, dass alle Anstrengungen, das Phänomen "Transplantatvaskulopathie" (TVP) hinsichtlich Ätiologie, Pathogenese, Diagnose und therapeutischer Optionen zu entschlüsseln zwangsläufig daran scheitern, dass ihre unterschiedlichen morphologischen Substrate nicht durch eine einheitliche Nomenklatur fixiert sind (Tabelle 1). Alleine in der im folgenden skizzierten und diskutierten Literatur finden sich als Ausdruck der mangelnden intellektuellen Klarheit insgesamt 70 unterschiedliche Begriffe bei gleichem oder unterschiedlichem morphologischen Korrelat.

### Tabelle 1: "Happy Terminology" für Gefäßveränderungen in Herztransplantaten

1	Accelerated Cardiac Allograft Arteriosclerosis <sup>9</sup>
2	Accelerated Cardiac Allograft Atherosclerosis <sup>10</sup>
3	Accelerated Coronary Arteriosclerosic <sup>9, 11, 12</sup>
1	Accelerated Coronany Artens Disass <sup>12-17</sup>
4	Accelerated Coronary Artery Disease
5	Accelerated Coronary Vascular Disease-
6	Accelerated Graft Arteriosclerosis <sup>19</sup>
7	Accelerated Graft Coronary Artery Disease <sup>20</sup>
8	Accelerated Graft Coronary Disease <sup>21-23</sup>
0	Accelerated Graft Vessel Disease <sup>24</sup>
5	Accelerated Grait Vessel Disease
10	Accelerated Transplant-related Coronary Artery Disease
11	Allograft Arteriopathy <sup>co, 27</sup>
12	Allograft Arteriosclerosis <sup>28, 29</sup>
13	Allograft Coronary Artery Disease <sup>10, 30-32</sup>
14	Allograft Coronary Disease <sup>33, 34</sup>
15	Allograft Coronary Vasculonathy <sup>35-38</sup>
16	Allograft Vaccular Discore <sup>39,40</sup>
10	Allograft vasculai Disease
1/	Allograft Vasculopathy <sup>2,4</sup> , a set
18	Autoimmune-mediated Vasculopathy <sup>32</sup>
19	Cardiac Allograft Coronary Arterial/Artery Disease <sup>53, 54</sup>
20	Cardiac Allograft Vascular Disease <sup>55</sup>
21	Cardiac Allograft Vasculopathy <sup>4, 43, 45, 46, 48, 56-73</sup>
22	Cardiac Vasculonathy <sup>74</sup>
22	Cardiac Transplant Atherosclerosis <sup>2</sup>
23	Cardiac Transplant Autolosido 55
24	Carculac Transplant Vasculopatny."
25	Chronic Cardiac Allograft Vasculopathy'
26	Chronic Rejection <sup>15, 16, 41, 49, 52, 77-82</sup>
27	Coronary Allograft Vasculopathy <sup>83</sup>
28	Coronary Arteriosclerosis <sup>78</sup>
20	Coronary Arteny Dicase <sup>84-93</sup>
20	Coronary Artery Discuse
50	Coloriary Artery Vasculopatry
31	Coronary Occlusive Disease <sup>33,30</sup>
32	Coronary Transplantation-associated arteriosclerosis <sup>37</sup>
33	Coronary Vascular Disease <sup>86</sup>
34	Coronary Vasculopathy <sup>44, 98, 99</sup>
35	Graft Arteriopathy <sup>100</sup>
36	Graft Attrioschrosis <sup>81, 101-103</sup>
27	
3/	Graft Atheroscierosis, and a 102 108
38	Graft Coronary Artery Disease 3, 10, 100
39	Graft Coronary Disease <sup>33, 109, 110</sup>
40	Graft Coronary Vascular Disease <sup>86</sup>
41	Graft Vascular Disease <sup>77, 111-113</sup>
42	Graft Vasculonathy <sup>52</sup>
12	Craft Vascal Disageo 6-8, 114-116
43	Graft Vessel Disease
44	Heart Graft Arterioscierosis
45	Heart Transplant Vascular Sclerosis <sup>3</sup>
46	Heart Transplant Vasculopathy <sup>118</sup>
47	Obliterative Arteriopathy <sup>26</sup>
48	Obstructive Coronary Artery Vasculopathy <sup>94</sup>
40	Post-cardiac Transplant Arteriopathy <sup>100</sup>
50	Port transplant Coronary Artany Dicasca <sup>119</sup>
50	Det transplant Corollal y Altery Disease
51	
52	Solid Organ Allograft Arteriopathy <sup>20</sup>
53	Transplant Arteriopathy <sup>120</sup>
54	Transplant Arteriosclerosis <sup>121, 122</sup>
55	Transplant Atherosclerosis <sup>10, 120, 123</sup>
56	Transplant-associated Atherosclerosis <sup>124</sup>
57	Transplant-accorded Attraiocoerosis <sup>11</sup>
5/	Transplant associated Arterios Negrover to 125
58	
59	Transplant-associated Coronary Arteriosclerosis <sup>103</sup>
60	Transplant-associated Coronary Artery Disease <sup>25, 125-127</sup>
61	Transplant-related Coronary Artery Disease <sup>128, 129</sup>
62	Transplant-related Graft Coronary Disease <sup>22</sup>
63	Transplant Coronary Artery Dicasca <sup>27, 130-136</sup>
64	Transplant Coronavi Artery Disease
04	Tansplant Coronary Artery Disease and an
65	I ransplant Coronary Artery Vasculopathy
66	Transplant Coronary Vascular Disease <sup>18</sup>
67	Transplant Coronary Vasculopathy <sup>141</sup>
68	Transplant Graft Arterial Disease <sup>29</sup>
69	Transplant Vascular Scienceis <sup>142</sup>
70	Transplant Vacculonathy 3, 41, 47, 57, 118, 124, 143-147
70	וומווסטומווג אסכעוטאמנווא

#### 1.2 Morphologie

Die TVP unterscheidet sich morphologisch von der "klassischen" koronaren Herzkrankheit nichttransplantierter Herzen, obwohl einige Parallelen in den formalen Pathogenesen gezeigt werden konnten.<sup>78, 148</sup> Der überwiegende Anteil der aktuellen Literatur fokussiert auf die epikardiale Manifestationsform und die Intima als morphologisches Korrelat der TVP; nur wenige Autoren schließen einen Befall der terminalen Strombahn ausdrücklich aus. Alle Studien, die den Befall der terminalen Strombahn ausschließen,<sup>5, 18, 26</sup> haben diese jedoch nie gesondert untersucht. Eine Auswahl an Studien zur Morphologie der TVP ist nach eingesetztem diagnostischen Instrument gegliedert in den **Tabellen 2** (Koronarangiographie), **3** (intravaskulärer Ultraschall, IVUS) und **4** (Histologie, Immunhistochemie) dargestellt.

Die Anzahl koronarangiographischer Studien zur TVP mit korrespondierenden histologischen Untersuchungen der epikardialen Strombahn ist begrenzt (**Tabelle 2**). Zwar untersuchten Gao<sup>18</sup> mit 121 Patienten und Sharples<sup>71</sup> mit 566 Fällen große Patientenvolumina, erbrachten jedoch selbst keinen Beleg für die von ihnen postulierten morphologischen Substrate der koronarangiographischen Veränderungen. Des weiteren erhoben diese Untersuchungen im Querschnitt erst 2–5 Jahre nach HTx das koronarangiographische Bild der TVP, wobei der Zeitpunkt der Erstdiagnose wiederum noch weitere Jahre hinter dem Zeitpunkt der Erstdiagnostik lag. Zeitnahe angiographische und histologische Untersuchungen in Explantaten bei Autopsie bzw. Re-HTx der epikardialen Blutgefäße finden sich in zwei Fallberichten<sup>13, 117</sup> und zwei weiteren Studien mit 12<sup>93</sup> und 39 Patienten,<sup>42</sup> während Pardo Mindan und Kollegen<sup>82</sup> bei 18 Patienten im Mittel 2,5 Jahre nach HTx die bioptischen Befunde mit der korrespondierenden koronarangiographischen Untersuchung verglichen. Die Art des untersuchten Materials hat zur Folge, dass keiner dieser Berichte Informationen über frühe Veränderungen der epikardialen Koronararterien bereitstellen kann. In den Untersuchungen zeigte sich als morphologisches Korrelat der koronarangiographischen Befunde diffuse konzentrische Endothel- bzw. Intimaproliferationen mit oder ohne Fibrosierung der Intima bzw. Media, die in unterschiedlichem Ausmaß mit unscharfen Lumenbegrenzungen und Lumeneinengungen assoziiert waren. Dabei zeigte sich auch, dass die bis in die proximalen epikardialen Koronararterien nachweisbaren vaskulären Veränderungen auch ohne merkliche Lumeneinengung im Angiogramm auftraten.<sup>117</sup> Als weitere koronarangiographische Erscheinungsformen sind Veränderungen mit positivem (proximal weite Gefäße) bzw. negativem (proximale Engstellung) Remodelling sowie periphere Obliterationen kleiner Seitenäste ohne Kollateralenbildung beschrieben,<sup>18</sup> deren morphologische Korrelate allerdings weitgehend unbekannt sind. Alle vorgenannten Studien,<sup>13, 42, 93, 117</sup> die sowohl die epikardialen als auch intramyokardialen Blutgefäße histologisch untersucht haben, konnten vaskulopathische Veränderungen im gesamten arteriellen Koronargefäßbaum darstellen. Dagegen scheiterte Armstrong und Kollegen<sup>5</sup> bei dem Versuch, in bioptischem Material gesicherte "arterioläre" Stenosen in 51 Gefäßen mit solchen in der Koronarangiographie zu korrelieren. Zu bemerken ist dabei, dass in dem Untersuchungszeitraum von 3 Jahren nach HTx weder die Anzahl der Biopsieproben je Zeitintervall noch der Zeitpunkt der koronarangiographischen Untersuchungen deklariert wurde. Darüber hinaus konnten in den insgesamt untersuchten 148 Gewebeproben nur 164 "Arteriolen" (Durchmesser 20-85

μm) darstellen werden, obwohl rechtsventrikuläre Biopsien bei einer Fläche von 13,5–22,5 mm<sup>2</sup> über eine Vaskularisierung von ca. 100 Arteriolen/mm<sup>2</sup> verfügen.<sup>8, 149</sup> Folglich wurden hier Gefäße untersucht, die der terminalen Strombahn vorgeschaltet und anatomisch als Arterien zu klassifizieren sind. Die TVP der terminalen Strombahn zeichnet sich dagegen durch luminale Stenosen in Gefäßen mit einem Durchmesser von 10–20 μm aus, und geht zusätzlich mit einer Abnahme der Ratio Arteriolen zu Kapillaren und damit einer Verminderung des Versorgungsquerschnitts einher.<sup>82, 149</sup> Diese morphologischen Substrate sind bereits innerhalb der ersten 100 Tage nach HTx nachweisbar und korrelieren im weiteren Verlauf mit luminalen Stenosen im Angiogramm.<sup>8, 82</sup> Folglich musste auch der Versuch von Clausell und Kollegen<sup>42</sup> scheitern, einen Zusammenhang zwischen der epikardialen und intramuralen TVP zu zeigen, da in dieser Studie nur 1–3 Arterien je Biopsie untersucht wurden, die bei fehlender Angabe im Manuskript von ihren Abmessungen so groß sein mussten, dass sie bei 9/39 Biopsieproben nicht vorhanden waren. Darüber hinaus wurden in dieser Studie Kapillaren ausdrücklich von der Untersuchung ausgeschlossen.

Tabelle 2:	Koronarangiographische Studien zur Morphologie der
	Transplantatvaskulopathie nach Herztransplantation

Referenz	n	Terminale	Epikardiale	Morphologisches Substrat	Assoziation
		Strombahn <sup>1</sup>	Strombahn	der luminalen Stenose	makro-mikrovaskulär
Armstrong <sup>5</sup>	30	Ø Arteriolen	Arterien	Intima	nein
Ballantyne <sup>13</sup>	1	Arterien	Arterien <sup>1</sup>	Intima	ja
Clausell <sup>42</sup>	39	Arterien	Arterien <sup>1</sup>	Intima	ja
Gao <sup>18</sup>	121	Ø	Arterien	Intima	nein
Hiemann <sup>8</sup>	41	Arteriolen	Arterien	makrovaskulär Ø untersucht	ja
		Kapillaren		Media in term. Strombahn	
		Venolenn			
Palmer <sup>117</sup>	1	Arteriolen	Arterien <sup>1</sup>	Intima	ja
Pardo Mindan <sup>82</sup>	18	Arteriolen	Arterien	Intima	ја
		Venolen			
Pucci <sup>93</sup>	12	Arterien	Arterien <sup>1</sup>	Intima	ja
Sharples <sup>71</sup>	566	_	Arterien	Intima	_

<sup>1</sup>korrespondierende histologische Untersuchungen;  $\emptyset$ , nicht betroffen; –, keine Angaben; n, Anzahl untersuchter Patienten

Der intravaskuläre Ultraschall (IVUS) ermöglicht die Beurteilung der Blutgefäßwand mit differenzierter Bewertung der Intima und des Media-Adventitia-Komplexes, sofern die Blutgefäßwand über einen Mindestdurchmesser von 150 µm verfügt.<sup>150</sup> Folglich kann der IVUS nur das epikardiale Strombett und dieses aufgrund der Abmessungen der derzeit gängigen Katheter auch nur bis zu einem Gefäßdurchmesser von minimal 1 mm bewerten.<sup>44, 84, 134</sup> In der Literaturrecherche fanden sich nur drei Arbeiten (**Tabelle 3**), die korrespondierend zum IVUS auch histologische Untersuchungen durchgeführt haben. Clausell und Kollegen<sup>42</sup> konnten keine Beziehung zwischen im IVUS diagnostizierten Läsionen und mikrovaskulären bioptischen Veränderungen feststellen, während Yamani und Mitarbeiter<sup>38, 51</sup> in einem mathematischen Konstrukt aus numerischen Rängen für akute zelluläre und vaskuläre Rejektion, zelluläre Infiltrate, Myozytennekrosen und Fibrose sowie deren zeitlichen Auftreten nach HTx einen Zusammenhang zwischen im IVUS progredienter Intimaverdickung und der Summe bioptischer Veränderungen darlegen konnten. Auf morphologische Veränderungen der terminalen Strombahn jenseits des Nachweises von Komplement C3c wurde in dieser Arbeit nicht eingegangen. Darüber hinaus vereinigt der Biopsiescore bei gleicher Gewichtigkeit im Rechenmodell potentiell ursächliche Faktoren (zelluläre/vaskuläre Rejektion, zelluläre Infiltrate) mit myokardialen Folgeschäden (Myozytennekrosen, Fibrose), so dass die Aussage, ein myokardialer ischämisch-fibrotischer Schaden könne die Progression der epikardialen TVP voraussagen, eher in entgegengesetzter Richtung zu interpretieren wäre.

StGoar und Mitarbeiter<sup>151</sup> untersuchten 25 Patienten innerhalb der ersten 4 Wochen nach HTx und verifizierten in zwei Autopsiefällen eine Proliferation der Intima als morphlogisches Korrelat der epikardialen vaskulären Veränderungen im IVUS. Auf der Basis dieser Ergebnisse<sup>151</sup> und einer weiteren Studie,<sup>150</sup> die zusätzlich Untersuchungen an 60 Patienten jenseits des 1. Jahres nach HTx einschloss, wurde der Grundstein für die derzeit eingesetzte sog. Stanford-Klassifikation gelegt.<sup>135</sup> Ungeachtet der kleinen Fallzahl von autopsierten Patienten und ungeachtet dessen, dass bei 10/25 Patienten die Auflösung des IVUS nicht ausreichte, um die Gefäßwand überhaupt zu vermessen,<sup>151</sup> wurden bis heute keine Versuche unternommen, diese Klassifikation durch weitere, methodisch äquivalente Studien zu belegen. Da die Media im IVUS echoarm erscheint und sich nur schwer gegen die Umgebung abgrenzen lässt,<sup>135</sup> fokussieren morphologische Untersuchungen der TVP im IVUS zwangsläufig auf die Evaluation von Plagues sowie der Intimadicke und deren Fläche im Verhältnis zum Lumendurchmesser bzw. dessen Fläche. Im allgemeinen wird dabei ausschließlich der R. interventricularis anterior untersucht, während die anderen epikardialen Äste nur sporadisch evaluiert werden.<sup>134</sup> Bis heute gibt es nur zwei Studien, die in die Gesamtbewertung die longitudinale Verteilung der Läsionen integriert haben,<sup>66, 84</sup> während sonst die Einstufung anhand der größten Läsion erfolgt. Ein weiteres Problem der IVUS-Untersuchungen zur TVP besteht darin, dass sich aus Querschnittsstudien nur Prävalenzen ableiten lassen<sup>66, 69, 84, 134</sup> und der IVUS in longitudinalen Studien nur für das erste Jahr nach HTx validiert ist.44, 51, 136

Tabelle 3:	Intravaskuläre Ultraschallstudien zur Morphologie der
	Transplantatvaskulopathie nach Herztransplantation

Referenz	n	Terminale	Epikardiale	Morphologisches Substrat	Assoziation
		Strombahn <sup>1</sup>	Strombahn	der luminalen Stenose	makro-mikrovaskulär
Bocksch <sup>84</sup>	321	Ø	Arterien	Intima	Ø
Clausell <sup>42</sup>	39	Arterien	Arterien <sup>1</sup>	Intima	nein
Erinc <sup>44</sup>	89	Ø	Arterien	Intima	Ø
Klauss <sup>66</sup>	43	Ø	Arterien	Intima+Media	Ø
Mehra <sup>69</sup>	36	Ø	Arterien	Intima	Ø
StGoar <sup>150</sup>	80	Ø	Arterien	Intima	Ø
StGoar <sup>151</sup>	25	-	Arterien <sup>1</sup>	Intima	-
Tuzcu <sup>134</sup>	182	Ø	Arterien	Intima	Ø
Valantine <sup>135</sup>	_	-	Arterien	Intima	-
Yamani <sup>38, 51</sup>	140	Vask. Rej. <sup>2</sup>	Arterien	Intima	(ja)
Yeung <sup>136</sup>	229	Ø	Arterien	Intima	Ø

<sup>1</sup>korrespondierende histologische Untersuchungen; <sup>2</sup>immunfluoreszenzmikroskopischer Nachweis von C3c; Ø, nicht untersucht; –, keine Angaben; IVUS, intravaskulärer Ultraschall; n, Anzahl untersuchter Patienten

Die wohl bekanntesten und vom Patientengut größten histopathologischen Studien an Autopsie- und Explantationspräparaten von Herztransplantatempfängern stammen aus den Jahren 1987<sup>2</sup> und 1992<sup>152</sup> von Billingham (Tabelle 4). Sie prägte im Zusammenhang mit der TVP die Begriffe der konzentrischen Intimaproliferation durch myointimale Zellen und "alterierte" glatte Muskelzellen, die von der (verdünnten) Media in die Intima migrieren. Als weitere morphologische Korrelate beschrieb sie lipidgefüllte Makrophagen und Schaumzellen, die in den intimalen, typischerweise nicht-verkalkten Plaques akkumulierten, ohne dabei die Lamina elastica interna zu zerstören. Diese intakte Lamina elastica interna wurde zu einem Hauptmerkmal der TVP nach HTx stilisiert, und entsprechende Elastica von Gieson-Färbungen als notwendiges Instrument zur histologischen Diagnostik einer TVP gefordert, um fixierungsbedingte Wandkontraktionen in den Arteriolen von echten Wandverdickungen unterscheiden zu können.<sup>22, 111</sup> Billingham wies allerdings gleichermaßen darauf hin, dass die TVP sowohl die epikardialen als auch kleinen penetrierenden Koronaräste befällt, letztere vor einem Befall der epikardialen Strombahn stenosiert sein können und damit das morphologische Äquivalent des plötzlichen Herztods bei nur minimal betroffenen großen Koronararterien darstellen.<sup>2, 152</sup> Vor diesem Hintergrund muss die pathognomonische Bedeutung der Lamina elastica interna relativiert werden, denn diese kann wie bereits auch bei HTx-Patienten beschrieben,<sup>102</sup> in Arteriolen physiologischerweise fenestriert sein und ist in Kapillaren nicht nachweisbar.

Bis auf Lin und Kollegen,<sup>120</sup> die ihre morphologischen Untersuchungen auf den R. interventricularis anterior beschränkten und nach 100 mmHg Perfusionsfixierung keine Unterschiede im proximalen und distalen Verteilungsmuster der Läsionen darstellen konnten, beschreiben alle weiteren hier zitierten Studien einen generalisierten Blutgefäßbefall bei TVP, d. h. ihre Ausdehnung auf das epikardiale und intramyokardiale Flussbett. Dieser pankardiale Befall erfolgt allerdings nicht gleichmäßig bei allen Patienten, und es ist überraschend, dass bis heute nicht versucht wurde, die Gründe für dieses Phänomen zu charakterisieren. Die Ausdehnung der TVP auf größere, intramyokardiale Arterien (>50  $\mu$ m) wurde mehrfach bestätigt,<sup>26, 39, 102</sup> und ihre morphologischen Substrate anhand morphometrischer<sup>102</sup> und immunhistochemischer<sup>26, 102</sup> Untersuchungen detailliert untersucht. Es wurden die myointimalen Zellen im Rahmen der konzentrischen Intimahyperplasie verifiziert genauso wie die Verdünnung der Media.<sup>26, 39, 102</sup> Die Adventitia erscheint auf dieser Ebene des Koronarbaums verbreitert und fibrosiert.<sup>26, 39, 86</sup> Es finden sich auch Berichte über gleichzeitig bestehende morphologische Veränderungen der Endothelzellen in Form einer Hypertrophie<sup>26</sup> oder Verdickung bzw. Schwellung,<sup>86</sup> jedoch ohne dass sie an dem luminal stenosierenden Prozess teilhaben.

Der Begriff der terminalen Strombahn wird im Zusammenhang mit morphologischen Befunden bei TVP nur von einer limitierten Anzahl Autoren verwendet.<sup>7, 8, 149</sup> Diese Literatur zeichnet sich jedoch im Gegensatz zu der Vorgenannten dadurch aus, dass sie die mikrovaskulären Veränderungen nicht nur qualitativ sondern auch (semi-) quantitativ beschreibt und zusätzlich das Ausmaß myokardialer Folgeschäden in Form von Fibrose, Granulationsgewebe, Narben und Myozytolysen erfasst. Die für TVP charakteristischen Veränderungen in der terminalen Strombahn (Gefäßdurchmesser <20 μm) bestehen aus einer luminal stenosierenden Vaskulopathie, die gleichermaßen Arteriolen, Venolen und Kapillaren befällt.<sup>7, 8, 28, 149</sup> Das morphologische Korrelat der vaskulären Texturstörungen ist eine Vermehrung von glatten Muskelzellen in präexistenten Arteriolen<sup>102</sup> und ein Klassenwechsel von Kapillaren zu Blutgefäßen mit glattmuskulären Zellen, das letztendlich zu in einer verminderten kapillären Vaskularisierung und damit erhöhten "Ischämiebereitschaft" des Myokards führt.<sup>7, 8, 102, 103, 149</sup> Auch in der terminalen Strombahn kommt es zu morphologischen Veränderungen der Endothelzellen, die vergrößert und verplumpt erscheinen und sich in einer oder mehreren Schichten in das Lumen vorwölben.<sup>7, 28, 149</sup> Diese Veränderungen finden sich vornehmlich in der frühen Phase nach HTx während im weiteren Zeitverlauf eine progrediente Wandverdickung das morphologische Bild kennzeichnet.<sup>28</sup>

Wie auch bei den bildgebenden Untersuchungen der epikardialen Koronararterien sind die Mehrzahl der histologischen Untersuchungen Querschnittsstudien ohne hinreichende Stichprobengröße in der frühen Phase nach HTx, während serielle Untersuchungen auf kleine Patientenpopulationen begrenzt sind.<sup>8, 28</sup>

## Tabelle 4:Histologische und immunhistochemische Studien zur Morphologie derTransplantatvaskulopathie nach Herztransplantation

Referenz	n	Terminale	Epikardiale	Morphologisches Substrat	Assoziation
		Strombahn	Strombahn	der luminalen Stenose	makro-mikrovaskulär
Arbustini <sup>39</sup>	39	Arterien	Arterien	Intima+fibrosierte	ja
				Adventitia (Media verdünnt)	
Billingham <sup>2</sup>	148	Arteriolen	Arterien	Intima	ja
		$\varnothing$ Venen	$\varnothing$ Venen	(Media unverändert/verdünnt)	-
Billingham <sup>152</sup>	210	Arterien	Arterien	Intima	ja
5				(Media unverändert/verdünnt)	2
Demetris <sup>26</sup>	12	Ø	Arterien	Întima + Adventitia	ia
				(Media verdünnt)	2
Hiemann <sup>7, 149</sup>	393	Arteriolen	_	Media	-
	1.351	Kapillaren			
		Venen			
Johnson <sup>86</sup>	61	Arterien	Arterien	Intima	ja
		(Vaskulitis)		Media+Adventitia fibrosiert	2
Koskinen <sup>28</sup>	46	Àrteriolen	_	Intima	_
Lin <sup>120</sup>	25	_	Arterien	Intima	_
Liu <sup>102</sup>	10	Arterien	Arterien	Intima	ia
		Venen	Venen		2
Neish <sup>103</sup>	9	Arterien	Arterien	Intima	ја

Ø, nicht betroffen; –, keine Angaben oder nicht untersucht; n, Anzahl untersuchter Patienten

#### 1.3 Kausale Pathogenese

In der kausalen Pathogenese der epikardialen TVP sind viele immunologische und nichtimmunologische Risikofaktoren postuliert worden, jedoch wurde keiner dieser Faktoren bislang unwidersprochen belegt oder in äquivalenten Analysen hinreichend verifiziert (**Tabellen 5–8**). Nur zwei Literaturstellen befassen sich mit der kausalen Pathogenese der mikrovaskulären TVP. Ebenso wie bei den morphologischen Studien zur TVP beruhen die Publikationen zu deren Ätiopathogenese auf heterogenen Patientenpopulationen, die zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach HTx mit verschiedenen Methoden und uneinheitlichen Zielkriterien das Auftreten oder die Progression der TVP untersucht haben. Gemeinsam ist jedoch allen diskutierten ätiopathogenetischen Mechanismen, dass sie letztendlich in einer Störung der regelnden Funktion der Endothelzellen münden.

Die TVP ist ausschließlich auf das transplantierte Organ begrenzt und daher das Ergebnis einer kontinuierlichen immunologischen Auseinandersetzung des Empfängers mit dem transplantierten Organ.<sup>4, 153</sup> In wieweit Häufigkeit, Schweregrad, Zeitpunkt nach HTx und Dauer akuter immunologischer Reaktionen in Form von zellulären Abstoßungsepisoden dabei eine triggernde oder akzelerierende Funktion übernehmen wird kontrovers diskutiert (Tabelle 5).<sup>7, 19, 68, 91, 93, 133, 154-156</sup> Sowohl in der Koronarangiographie als auch im IVUS konnte eine Beziehung zwischen der Gesamtanzahl zellulärer Rejektionen und der TVP belegt werden.<sup>68, 133, 156</sup> Während anhand IVUSgestützter Untersuchungen dieser Zusammenhang auf die ersten drei Monate nach HTx limitiert war,<sup>133</sup> konnte anhand angiographischer Studien ein triggernder Effekt höhergradiger zellulärer Rejektionen innerhalb des ersten Jahres nach HTx<sup>154</sup> und ein zeitunabhängiger Einfluss für Abstoßungsepisoden jeden Schweregrades demonstriert werden.<sup>156</sup> Mangiavacchi und Kollegen<sup>68</sup> grenzten diesen zeitunabhängigen Effekt allerdings auf die Anzahl behandelter Rejektionen ein. Loebe und Mitarbeiter<sup>19</sup> konnten letzteren Zusammenhang jedoch nicht belegen, und auch die Validierung der Gesamtanzahl akuter Abstoßungen als Risikofaktor für die TVP blieb in weiteren koronarangiographische Studien aus.<sup>91, 93, 155, 157</sup> Der Nachweis einer Triggerfunktion akuter immunologischer Auseinandersetzungen für die Entwicklung einer mikrovaskulären TVP konnte bislang nur immunhistochemisch über den Nachweis von T-Zellen im Transplantat geführt werden und war auf den Zeitraum jenseits des 5. bis zum 12. Monat nach HTx begrenzt.<sup>7</sup> In die Gruppe der zellulär vermittelten Immunreaktionen ist auch der Quilty zuzuordnen, ein subendokardiales Lymphozyteninfiltrat, das gehäuft in Verbindung mit zellulären Rejektionen gemäß den Kriterien der International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) auftritt.<sup>113, 128, 158</sup> Hier konnte bei Auftreten innerhalb des ersten Jahres nach HTx neben einem triggernden<sup>128, 158</sup> sogar ein "protektiver Effekt" dargestellt werden:<sup>113</sup> Letzterer war jedoch auf Patienten, die mindestens ein Jahr nach HTx überlebten begrenzt. Als weitere Risikofaktoren im Bereich der zellulären Abwehr wurden anhand serologischer Studien eine erhöhte Anzahl peripherer B-Zellen und natürlicher Killerzellen (NK-Zellen) sowie eine vermehrte Apoptose von CD4+ Zellen beschrieben.<sup>124</sup> Darüber hinaus gibt es Hinweise für die ätiopathogenetische Bedeutung der homozygoten Ausprägung des Tumor-Nekrose-Faktor A2 und B2 Gens, wobei diese Korrelationen auf serologischen und koronarangiographischen Studien nach HTx

beruhen, nur in zwei Fällen durch autoptische Untersuchungen belegt wurden und die Wechselwirkung der Genprodukte mit dem Transplantat nicht näher definiert wurden.<sup>159</sup>

Neben der zellulären Immunantwort wird auch die sog. humorale Rejektion als Risikofaktor betrachtet, die durch vaskuläre Ablagerungen von IgG, IgM, C3c und C1q sowie eine Schwellung der Endothelzellen charakterisiert ist.<sup>80</sup> Inwieweit der akzelerierende Einfluss des Zytomegalievirus (CMV) auf die epikardiale<sup>19, 68, 105, 160</sup> und mikrovaskuläre<sup>28</sup> TVP durch Triggerung zellulärer bzw. humoraler Abwehrmechanismen oder durch seine Persistenz in Endothelzellen mit Störung derer regelnden Funktion begründet ist bleibt derzeit offen. Allerdings scheint die Wirkung von CMV auf die epikardiale TVP auf deren Verlauf jenseits des ersten Jahres nach HTx beschränkt zu sein.<sup>19, 68, 69, 105, 160</sup>

Weitere potentielle immunologische Risikofaktoren bilden die Ausprägung bestimmter HLA-Typen sowie die Anzahl der HLA-Missmatche.<sup>4</sup> Beide Faktoren konnten bislang nicht mit dem angiographischen Nachweis einer TVP korreliert werden,<sup>93, 155, 157</sup> während sich im Register der ISHLT ein inverser Zusammenhang zwischen der TVP und der Anzahl von HLA-B Missmatchen zeigt.<sup>3</sup> Auch die kausalpathogenetische Bedeutung sog. Panel Reactive Antibodies (präformierte Antikörper), die in zwei großen Studien untersucht wurde, ist umstritten. Während Kerman und Kollegen<sup>161</sup> hier eine Beziehung zwischen präformierten Antikörpern vor HTx und der angiographischen Ausprägung einer TVP zeigen konnten widerlegten sie damit die Befunde von Mangiavacchi und Mitarbeitern,<sup>68</sup> denen der Nachweis misslang.

# Tabelle 5:Immunologische Risikofaktoren für die Entwicklung einerTransplantatvaskulopathie nach Herztransplantation

Referenz	Risikofaktor	n	Methode	Zeitintervall post HTx	Kriterien für TVP	Assoziation
Densem <sup>154</sup> Gaudin <sup>155</sup>	ACR ISHLT Grade ≥3 (1. J) ACR insgesamt	129 50	Angio Angio	2–9 J 1–5 J	Jede Veränderung Diffus-konzentrische Läsionen	<b>ja</b> nein
Holvoet <sup>157</sup>	ACR insgesamt	65	Angio	1–7 J	Luminale Stenose	nein
Kobashigawa <sup>133</sup>	ACR 0–3 Mo pHTx	68	IVUS	1 Mo–1 J	Maximale Intimadicke	ja
Loebe	Behandelte ACR insgesamt	38	Angio Autopsie	1–4 J	Luminale Stenose	nein
Mangiavacchi <sup>68</sup> Olivari <sup>91</sup>	Behandelte ACR insgesamt* ACR insgesamt	155 74	Angio Angio	1–7 J 1–4 J	Stanford B-Läsionen Lumenirregularitäten Luminale Stenose	<b>ja</b> nein
Pucci <sup>93</sup>	ACR insgesamt	6 6	Angio	11–17 J ≤2 J	Luminale Stenose	nein
Radovancevic <sup>156</sup>	ACR insgesamt	210	Angio Autopsie Re-HTx	1 Mo–7 J	Jede Veränderung	ja
Hiemann <sup>7</sup>	T-Zell-Nachweis (Biopsie) ≥ 5-12 Mo pHTx	422	Biopsie	1 Mo-10 J	Mediaverdickung 4 –10 J pHTx	ja
Ternstrom <sup>159</sup>	TNF A2 Gen, TNF B2 Gen ↑ (peripheres Blut, pHTx)	68 2	Angio Autopsie	1—10 J	Jede Veränderung	ja
Ankersmit <sup>124</sup>	CD4+ Apoptose ↑ B-Zellen ↑ NK-Zellen ↑	_ 40	IVUS	0–1 J	-	ja
Michaels <sup>80</sup>	(peripheres Blut, pHTx) Humorale Rejektion $\leq 1$ J pHTx (Inc. (M/A, C2c, C1c, CDC8))	129	Angio	1 J	>20% luminale Stenose	ja
Olivari <sup>91</sup>	(198/м/А, Сэс, С14, СD08) НLА-Тур	74	Angio	1–4 J	Lumenirregularitäten Luminale Stenose	nein
Pucci <sup>93</sup>	HLA-Typ	6 6	Angio	11–17 J <2 J	Luminale Stenose	nein
Gaudin <sup>155</sup>	Anzahl HLA I-Missmatch	50	Angio	1–5 J	Diffus-konzentrische Läsionen	nein
Holvoet <sup>157</sup>	Anzahl HLA-Missmatch	65	Angio	1–7 J	Luminale Stenose	nein
	HLA-B Missmatches	1.146	Ø	1 –7 J	Ø	invers
Chu <sup>120</sup>	Quilty im 1. J pHTx (bei HLA-II AK negativ)	285	Angio	1–5 J	Stanford-Klassifikation	ja
Joshi <sup>113</sup>	Quilty*	239	Angio	1–5 j	Luminale Stenose	invers
	Quilty $\leq 2$ Mo pHTx	140	IVUS	1 Mo-1 J	Maximale Intimadicke	ja
Gaudin <sup>155</sup>	CMV pHTx	144 50	Angio Angio	0–4 J 1–5 J	Lumeneinengung Diffus-konzentrische Läsionen	<b>ja</b> nein
Grattan <sup>105</sup>	CMV pHTx	301	Angio Autopsie	1—8 J	Luminale Stenose	ja
Holvoet <sup>157</sup>	CMV pHTx	65	Angio	1–7 J	Luminale Stenose	nein
Koskinen <sup>28</sup>	CMV pHTx	46	Biopsie	1 Wo–2 J	Arterioläre Endothelproliferation Intimaverdickung	ja
Loebe	CMV pHTx	38	Angio Autopsie	1–4 J	Luminale Stenose	ja
Mangiavacchi <sup>68</sup>	CMV im 1. J pHTx*	155	Angio	1–7 J	Stanford B-Läsionen	ja
Mehra <sup>89</sup>	CMV pHTx	36	IVUS	1 J	Intimadicke Intimaler Index	nein
Kerman <sup>161</sup>	PRA prä-HTx	130	Angio	1,7–7,3 J	Luminale Stenose	ja
Mangiavacchi <sup>68</sup>	PRA prä-HTx*	155	Angio	1–7 J	Stanford B-Läsionen	nein

\*Überlebender >1 Jahr post HTx; ACR, akute zelluläre Rejektion; Angio, Koronarangiographie; CMV+, Zytomegalievirus-positiv; HLA, Human Leukocyte Antigen; HTX, Herztransplantation; Ig, Immunglobulin; IVUS, intravaskulärer Ultraschall; Mo, Monate; J, Jahre; n, Anzahl untersuchter Patienten; pHTx, nach Herztransplantation; PRA, Panel Reactive Antibodies

Zu den seitens des Spenders in Betracht gezogenen nicht-immunologische Risikofaktoren (**Tabelle 6**) gehört der Modus des Hirntods. Unter der Vorstellung, dass eine rasche intrazerebrale Druckerhöhung mit einer vermehrten Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine, Adhäsions- und kostimulatorischen Molekülen assoziiert ist, zeigten Mehra und Kollegen<sup>162</sup> in einer Studie mit 61 Patienten, dass der "explosive Hirntod" in Form eines Schädel-Hirn-Traumas oder einer akuten intrazerebralen Blutung mit der TVP im IVUS und dem Auftreten schwerer kardialer Ereignisse assoziiert war. Gemäß des ISHLT-Registers<sup>3</sup> ist diese Korrelation für das gesamte Spektrum des zerebrovaskulären Tods darstellbar, wobei hier jedoch keine Detailanalyse hinsichtlich diagnostischem Instrument und Zielkriterien für TVP vorliegt. Unter dem Aspekt der Akkumulation von proinflammatorischen Mediatoren wurde auch die Ischämiezeit als potentieller Risikofaktor diskutiert, die Ergebnisse hierzu lassen jedoch derzeit keine endgültige Schlussfolgerung zu.<sup>56, 68, 93, 101, 155, 157</sup>

Anhand des ISHLT-Registers<sup>3</sup> zeigt sich eine Korrelation zwischen einem erhöhten Spenderalter und dem Auftreten einer TVP. Dieses Ergebnis stützt vorangegangene angiographische<sup>154, 157, 160</sup> und IVUS-gestützte Untersuchungen.<sup>160</sup> Allerdings liegen auch hier Studien an z. T. großen Patientenpopulationen vor, die weder angiographisch<sup>19, 68, 155</sup> noch anhand des IVUS<sup>101</sup> einen triggernden Effekt durch ein erhöhtes Spenderalter verifizieren konnten.

In der Literatur finden sich anhand des IVUS<sup>44, 69</sup> und der Koronarangiographie<sup>163</sup> Hinweise, dass das weibliche Spendergeschlecht ein Risikofaktor für die Entwicklung einer TVP ist. Aber auch dieser Risikofaktor ist nicht unwidersprochen belegt,<sup>68, 101, 157, 164</sup> und anhand der Daten des ISHLT-Registers<sup>3</sup> lässt sich sogar ein protektiver Effekt für das weibliche Spendergeschlecht darstellen. Letzteres Register weist auch auf die kausalpathogenetische Bedeutung des arteriellen Hypertonus und Diabetes mellitus beim Spender für die Entwicklung einer TVP hin, wobei diese Risikofaktoren bislang durch keine weiteren Studien gefestigt wurden. Die Bedeutung von vom Spender importierten Läsionen lässt sich methodisch nur anhand sog. Baseline-Untersuchungen mittels des IVUS verifizieren und ist gemäß vorliegenden Berichten nur spärlich belegt.<sup>47, 160</sup>

Referenz	Risikofaktor	n	Methode	Zeitintervall post HTx	Kriterien für TVP	Assoziation
Mehra <sup>162</sup>	"Explosiver Hirntod" des Spenders	61	IVUS	1–3,4 J	Intimadicke Kardiales Ereignis <sup>1</sup>	ja
Taylor <sup>3</sup>	Zerebrovaskulärer Tod des Spenders	1.146	Ø	1–7 J	Ø	ja
Densem <sup>154</sup>	Spenderalter ↑	129	Angio	2–9 J	Jede Veränderung	ja
Gaudin <sup>155</sup>	Spenderalter ↑	50	Angio	1–5 J	Diffus-konzentrische Läsionen	nein
Gao <sup>160</sup>	Spenderalter >40 J (n=9)	199 47	Angio IVUS	0–4 J	Lumeneinengung Intimadicke	ja
Hauptman <sup>101</sup>	Spenderalter ↑	204	IVUS	2 Mo–2 J	MIT, II	nein
Holvoet <sup>157</sup>	Spenderalter ↑	65	Angio	1–7 J	Luminale Stenose	ja
Loebe <sup>19</sup>	Spenderalter ↑	38	Angio Autopsie	1–4 J	Luminale Stenose	nein
Mangiavacchi <sup>68</sup>	Spenderalter ↑ (Überlebende >1 J pHTx)	155	Angio	1–7 J	Stanford B-Läsionen	nein
Tavlor <sup>3</sup>	Spenderalter 1	6.730	Ø	0–3 J	Ø	ia
		1.146	Ø	1–7 ]	Ø	ia
Hauptman <sup>101</sup>	Spendergeschlecht	204	TVUS	2 Mo- 1	MIT II	nein
Bryan <sup>164</sup>	Spendergeschlecht	279	Ø	11	Ø	nein
Erinc <sup>44</sup>	Spendergeschlecht ♀	89	ĨVUS	1 Mo-1 J	MIT, PA, Mittlere Intimafläche Intimaler Index	ја
Holvoet <sup>157</sup>	Spendergeschlecht	65	Anaio	1-7.1	Luminale Stenose	nein
Mangiavacchi <sup>68</sup>	Spendergeschlecht (Überlebende >1 $1 \text{ pHTx}$ )	155	Angio	1–7 J	Stanford B-Läsionen	nein
Mehra <sup>69</sup>	Spendergeschlecht 2	36	IVUS	11	Intimadicke, II	ia
Taylor <sup>3</sup>	Spendergeschlecht °	6 730	Ø	0_31	$\alpha$	j invers
Taylor	Spendergesenicent +	1 146	Ø	1_71	Ø	invers
Vamani <sup>163</sup>	Spondorgoschlacht °	261	© Angio	1-7J	Luminala Stanasa > E004	invers
1 di lidi li		204	Aligio	1-0J		Ja
Hauptman	Geschlechter-Missmatch	204	IVUS	2 MO-2 J		nein
Hauptman		204	IVUS	2 MO-2 J	MII, II	nein
Gaudin <sup>155</sup>	Ischamiezeit	50	Angio	1–5 J	Diffus-konzentrische Läsionen	nein
Holvoet	Ischämiezeit	65	Angio	1–7 J	Luminale Stenose	nein
Mangiavacchi <sup>68</sup>	Ischämiezeit ↑ (Überlebende >1 J pHTx)	155	Angio	1–7 J	Stanford B-Läsionen	nein
Pucci <sup>93</sup>	Ischämiezeit ↑	6 6	Angio	11–17 J ≤2 J	Luminale Stenose	nein
Gaudin <sup>155</sup>	Ischämie <sup>1</sup> in Bx peri-HTx	50	Angio	1–5 J	Diffus-konzentrische Läsionen	ja
Taylor <sup>3</sup>	Spender Hypertonus	6.730	Ø	0–3 J	Ø	ja
, -	Spender Diabetes	1.146	Ø	1–7 J	Ø	ia
Gao <sup>160</sup>	Importierte KHK (n=14)	199 47	Angio IVUS	0–4 J	Lumeneinengung Intimadicke	ja
Kapadia <sup>47</sup>	Importierte KHK	93	IVUS		Plaquedicke >5 mm	nein

# Tabelle 6:Nicht-immunologische Risikofaktoren des Spenders für die Entwicklung<br/>einer TVP nach HTx

<sup>1</sup>akuter Myokardinfarkt, plötzlicher Herztod, Notwendigkeit einer interventionellen oder chirurgischen Revaskularisierungstherapie; ♀, weiblich; Ø, keine Angabe; Angio, Koronarangiographie; HTx, Herztransplantation; II, intimaler Index; Immunhisto, Immunhistochemie; IVUS, intravaskulärer Ultraschall; J, Jahre; KHK, koronare Herzkrankheit; LA, luminale Fläche; MIT, maximale Intimadicke; Mo, Monate; n, Anzahl untersuchter Patienten; PA, Plaquefläche

Durch das sich kontinuierlich verbessernde Management herztransplantierter Patienten findet sich bei der TVP erwartungsgemäß ein sog. Ära-Effekt, d. h. eine abnehmende Wahrscheinlichkeit für die Entwicklung einer TVP in der Jetztzeit im Vergleich zu früheren Epochen (**Tabelle 7**).<sup>3</sup> Auch die Korrelation des zentrumsspezifischen jährlichen Transplantationsvolumens mit der TVP ist aufgrund

der statistischen Häufigkeitsverteilung schlüssig.<sup>3</sup> Dagegen erscheint der "protektive Effekt" von Transfusionen des Empfängers vor HTx<sup>3</sup> widersprüchlich zu Befunden, die eine triggernde Wirkung sog. Panel Reactive Antibodies bzw. einer Präsensibilisierung des Empfängers belegen,<sup>161</sup> und zeigt die Notwendigkeit auf, dieses Phänomen mechanistisch zu präzisieren. Äquivalent dazu entbehrt auch das Ergebnis des ISHLT-Registers<sup>3</sup> bezüglich des Body Mass Indexes empfängerseits als Risikofaktor für die TVP einem mechanistischen Ansatz.

Obwohl bereits in zahlreichen Studien die zur HTx führende koronare Herzkrankheit als potentieller Triggerfaktor für die Entwicklung einer TVP untersucht wurde, erscheint dieser Zusammenhang nicht gefestigt<sup>160</sup> und wurde in der Mehrzahl der Studien widerlegt.<sup>68, 91, 101, 156, 157</sup> Im Gegensatz zur koronaren Herzkrankheit nicht-transplantierter Herzen<sup>165</sup> zeigt die TVP nach HTx keine Häufigkeitszunahme mit zunehmendem Alter der betroffenen Patienten<sup>19, 91, 101, 155, 157</sup> und es bestehen sogar Hinweise, dass sie bevorzugt bei jüngeren Transplantatempfängern entsteht.<sup>3</sup> Während das weibliche Empfängergeschlecht gemäß den Ergebnissen des ISHLT-Registers<sup>3</sup> einen protektiven Faktor darstellt, konnte dieser Effekt in ausschließlich koronarangiographischen<sup>157</sup> und IVUS-gestützten<sup>101</sup> Untersuchungen nicht belegt werden.

Referenz	Risikofaktor	n	Methode	Zeitintervall post HTx	Kriterien für TVP	Assoziation
Taylor <sup>3</sup>	Tx-Ära <1998	6.730	Ø	0–3 J	Ø	ja
Taylor <sup>3</sup>	Anzahl HTx pro Jahr	6.730	Ø	0–3 J	Ø	ja
		1.146	Ø	1–7 J	Ø	ja
Taylor <sup>3</sup>	Transfusionen prä-HTx	6.730	Ø	0–3 J	Ø	invers
Hauptman <sup>101</sup>	Indikation zur HTx	204	IVUS	2 Mo-2 J	MIT, II	nein
Gao <sup>160</sup>	Indikation zur HTx KHK	199 47	Angio IVUS	0–4 J	Lumeneinengung Intimadicke	ja
Holvoet <sup>157</sup>	Indikation zur HTx	65	Angio	1–7 J	Luminale Stenose	nein
Mangiavacchi <sup>68</sup>	Indikation zur HTx (Überlebende >1 J pHTx)	155	Angio	1–7 J	Stanford B-Läsionen	nein
Olivari <sup>91</sup>	Indikation zur HTx	74	Angio	1–4 J	Lumenirregularitäten Luminale Stenose	nein
Radovancevic <sup>156</sup>	Indikation zur HTx	210	Angio Autopsie Re-HTx	1 Mo–7 J	Jede Veränderung	nein
Taylor <sup>3</sup>	Empfänger BMI prä-HTx	6.730	Ø	0–3 J	Ø	ja
		1.146	Ø	1–7 J	Ø	ja
Gaudin <sup>155</sup>	Empfängeralter	50	Angio	1–5 J	Diffus-konzentrische Läsionen	nein
Hauptman <sup>101</sup>	Empfängeralter	204	IVUS	2 Mo–2 J	MIT, II	nein
Holvoet <sup>157</sup>	Empfängeralter	65	Angio	1–7 J	Luminale Stenose	nein
Loebe <sup>19</sup>	Empfängeralter	38	Angio Autopsie	1–4 J	Luminale Stenose	nein
Olivari <sup>91</sup>	Empfängeralter	74	Angio	1–4 J	Lumenirregularitäten Luminale Stenose	nein
Tavlor <sup>3</sup>	Empfängeralter	6.730	Ø	0–3 J	Ø	invers
, -		1.146	Ø	1–7 J	Ø	invers
Hauptman <sup>101</sup>	Empfängergeschlecht	204	IVUS	2 Mo–2 J	MIT, II	nein
Holvoet <sup>157</sup>	Empfängergeschlecht	65	Angio	1–7 J	Luminale Stenose	nein
Taylor <sup>3</sup>	Empfängergeschlecht 2	6.730	Ø	0–3 J	Ø	invers

## Tabelle 7:Nicht-immunologische Risikofaktoren des Empfängers bei HTx für die<br/>Entwicklung einer TVP

 $\stackrel{\circ}{_{+}}$ , weiblich;  $\emptyset$ , keine Angabe; Angio, Koronarangiographie; HTx, Herztransplantation; II, intimaler Index; IVUS, intravaskulärer Ultraschall; J, Jahre; MIT, maximale Intimadicke; Mo, Monate; n, Anzahl untersuchter Patienten

In der **Tabelle 8** ist eine Auswahl nicht-immunologischer Risikofaktoren für die Entwicklung einer TVP dargestellt, deren potentielle Bedeutung im Verlauf nach HTx diskutiert wird. Die Entwicklung einer TVP erscheint bis auf wenige Ausnahmen<sup>101, 156, 157</sup> losgelöst von den klassischen Risikofaktoren der koronaren Herzkrankheit nicht-transplantierter Herzen<sup>165</sup>, wie Diabetes mellitus,<sup>68, 91, 101, 156, 157</sup> arterieller Hypertonus,<sup>68, 91, 101, 157</sup>, Übergewichtigkeit<sup>156</sup> und Fettstoffwechselstörungen.<sup>68, 91, 93, 156, 157</sup>

Dagegen scheinen Dysregulationen im Gerinnungssystem von wesentlicher kausalpathogenetischer Bedeutung zu sein. Hier konnte anhand serologischer<sup>118</sup> und bioptischer<sup>87, 166</sup> bzw. autoptischer Untersuchungen gezeigt werden, dass die TVP mit einem erhöhten endomyokardialen Nachweis von Fibrin einhergeht<sup>166</sup> bzw. durch einen Verlust von tissue Plasminogen Activator gekennzeichnet ist.<sup>87</sup> Anhand von IVUS-Untersuchungen konnten Fateh-Moghadam und Mitarbeiter<sup>118</sup> bei TVP eine erhöhte Thrombozytenaktivität belegen untermauern damit und vorangegangene autoptische Untersuchungen,<sup>99</sup> die über einen vermehrten Nachweis von Platelet-derived Growth Factor (PDGF) im Zusammenhang mit myokardialen Folgeschäden bei TVP berichteten. Die kausalpathogenetische Bedeutung von PDGF ist dabei im Zusammenhang mit seiner Funktion als eines der Hauptmitogene für glatte Muskelzellen zu sehen, der nicht nur deren Proliferation sondern Migration im Prozess der Arteriosklerose induziert.<sup>167</sup> Als weitere nicht-immunologische Risikofaktoren werden bestimmte Polymorphismen im Bereich des Transforming Growth Factor- (TGF) beta 1 Gens<sup>154</sup> sowie ein vermindertes adaptives Remodeling<sup>112, 168</sup> diskutiert.

## Tabelle 8:Nicht-immunologische Risikofaktoren nach HTx für die Entwicklung<br/>einer TVP

Referenz	Risikofaktor	n	Methode	Zeitintervall post HTx	Kriterien für TVP	Assoziation
Holvoet <sup>157</sup>	Diabetes mellitus	65	Angio	1–7 J	Luminale Stenose	nein
Mangiavacchi <sup>68</sup>	Diabetes mellitus	155	Angio	1–7 J	Stanford B-Läsionen	nein
5	(Überlebende >1 Jahr)		5			
Olivari <sup>91</sup>	Diabetes mellitus	74	Angio	1–4 J	Lumenirregularitäten	nein
Radovancevic <sup>156</sup>	Diabetes mellitus	210	Angio Autopsie Re-HTx	1 Mo-7 J	Jede Veränderung	nein
Hauptman <sup>101</sup>	Hypertonus	204	IVUS	2 Mo–2 J	MIT, II	nein
Holvoet <sup>157</sup>	Hypertonus	65	Angio	1–7 J	Luminale Stenose	nein
Mangiavacchi <sup>68</sup>	Hypertonus	155	Angio	1–7 J	Stanford B-Läsionen	nein
5	(Überlebende >1 J pHTx)		5			
Olivari <sup>91</sup>	Hypertonus	74	Angio	1–4 J	Lumenirregularitäten Luminale Stenose	nein
Radovancevic <sup>156</sup>	Hypertonus	210	Angio Autopsie Re-HTx	1 Mo-7 J	Jede Veränderung	ja
Hauptman <sup>101</sup>	BMI	204	IVUS	2 Mo-2 1	MIT. II	ia
Radovancevic <sup>156</sup>	>20% über Idealgewicht	210	Angio Autopsie Re-HTx	1 Mo-7 J	Jede Veränderung	nein
Holvoet <sup>157</sup>	Oxidiertes I DI	65	Angio	1-7.1	Luminale Stenose	ia
Holvoet <sup>157</sup>	Trialvzeride, HDL, LDL	65	Angio	1-7]	Luminale Stenose	nein
Mangiavacchi <sup>68</sup>	Triglyzeride, LDL (Überlebende >1 1 pHTx)	155	Angio	1–7 J	Stanford B-Läsionen	nein
Olivari <sup>91</sup>	Triglyzeride, LDL	74	Angio	1–4 J	Lumenirregularitäten Luminale Stenose	nein
Radovancevic <sup>156</sup>	Hyperlipidämie	210	Angio Autopsie Re-HTx	1 Mo-7 J	Jede Veränderung	nein
Pucci <sup>93</sup>	Hyperlipidämie	6 6	Angio	11–17 J <2 1	Luminale Stenose	nein
Radovancevic <sup>156</sup>	Nikotinkonsum	210	Angio Autopsie Re-HTx	1 Mo-7 J	Jede Veränderung	ja
Labarrere <sup>87</sup>	tPA↓ (Biopsie/Immunhisto)	78	Angio	0–5 J	<10%/10-50%/>50%	ja
Labarrere <sup>166</sup>	(Biopsie/Immunhisto) Fibrin ↑ (Biopsie/Immunhisto)	141	Angio	1–6 J	<10%/10–50%/>50%	ja
Fateh-M. <sup>118</sup>	Thrombozytenaktivität ↑	78	IVUS	4 Wo–1 J	Maximale Plaquedicke	ja
Shaddy <sup>99</sup>	PDGF ↑ (Myokard/Immunhisto)	20	Autopsie	1–28 Mo	Diffuse Fibrose, Myozytendegeneration/-	ja
Densem <sup>154</sup>	TGF-beta 1 Polymorphismus (peripheres Blut)	129	Angio	2–9 J	Jede Veränderung	ja
Gibbons <sup>112</sup>	Adaptives Remodelling J	_	_	_	Review	ia
Kobashigawa <sup>168</sup>	Adaptives Remodelling $\downarrow$	20	IVUS	2 Mo–3 J	LA, MIT, II, PA	ia

Angio, Koronarangiographie; BMI, Body Mass Index; HDL, High Density Lipoprotein; HTx, Herztransplantation; II, intimaler Index; Immunhisto, Immunhistochemie; IVUS, intravaskulärer Ultraschall; J, Jahre; LDL, Low Density Lipoprotein; MIT, maximale Intimadicke; Mo, Monate; n, Anzahl untersuchter Patienten; NK-Zellen, natürliche Killerzellen; PDGF, Platelet-derived Growth Factor; TGF, Transforming Growth Factor; TNF, Tumornekrosefaktor; tPA, tissue Plasminogen-Aktivator

#### **1.4 Formale Pathogenese**

Die formale Pathogenese der TVP im Bereich der epikardialen Blutgefäße ist hinreichend präzise beschrieben worden (**s. Tabellen 2 und 3**). Im Gegensatz dazu stützt sich die formale Pathogenese der TVP der "terminalen Strombahn" auf eine geringe Anzahl von Berichten (**Tabelle 4**). Eigene Untersuchungen ausgenommen<sup>7, 8, 149</sup> wird dabei der Begriff der terminalen Strombahn unter Berücksichtigung der Größenangabe der untersuchten Blutgefäße von allen anderen Autoren für die dem Endstromgebiet vorgeschalteten Blutgefäßklassen verwendet.

Im Zentrum der formalen Pathogenese der TVP steht die Störung der regelnden Funktion der Endothelzellen, die durch Zellschädigung oder -untergang zu deren Ausfall und/oder falschem Feedback führt. Infolge dessen bewirken die Endothelzellen durch eine veränderte Antigenstruktur auf ihrer Oberfläche<sup>78</sup> und Sekretion verschiedener Mediatoren, wie ICAM-1,<sup>87</sup> VCAM-1,<sup>78</sup> Interleukin-1β,<sup>55,</sup> <sup>78, 100</sup> TNF- $\alpha$ , <sup>169</sup> und Fibronektin, <sup>55, 100</sup> eine Rekrutierung immunologisch aktiver Zellen, wie z. B. Makrophagen.<sup>122, 143</sup> Deren Sekretionsprodukte<sup>17, 55</sup> aber auch die von den Endothelzellen selbst ausgeschütteten Mediatoren führen in den betroffenen Blutgefäßen zu einem architektonischen Umbau der Blutgefäßwand, die mit einer Störung ihrer strukturellen und funktionellen Integrität verbunden ist. Im epikardialen Strombett manifestiert sich die TVP dabei als eine Erkrankung der Intima, die durch eine konzentrische Proliferation "myointimaler Zellen" und Akkumulation von lipidgefüllten Makrophagen und Schaumzellen gekennzeichnet ist.<sup>2, 152</sup> Dieses morphologische Bild bleibt bis in die intramyokardialen Blutgefäße mit einem Durchmesser von 50 µm erhalten.<sup>26, 39, 102</sup> Hinzu kommt auf dieser Ebene des koronaren Strombettes eine Fibrosierung der Adventitia<sup>26, 39, 86</sup> sowie zeitgleich auftretende Verdickungen und Schwellungen der Endothelzellen.<sup>86</sup> Auf der Ebene der terminalen Strombahn (Blutgefäße <20 µm) führen die durch die Endothelzellen initiierten Prozesse zu einer Vermehrung von glatten Muskelzellen in präexistenten Arteriolen<sup>102</sup> und einem Klassenwechsel von Kapillaren zu Blutgefäßen mit glattmuskulären Zellen.<sup>7, 8, 102, 103, 149</sup> Auch hier sind die vorgenannten morphologischen Veränderungen der Endothelzellen eng mit den architektonischen Umbauprozessen der terminalen Strombahn assoziiert, ohne selbst das morphologische Äquivalent der luminalen Stenosierungen zu bilden.<sup>7, 28, 149</sup>

#### 1.5 Diagnose

#### **1.5.1** Terminale Strombahn

Da die TVP bei ausschließlichem Befall der Endstrombahn auch ohne Beteiligung bzw. Stenosierung der großen Blutgefäße auftreten kann, hat die diagnostische Sicherung einer Mikrovaskulopathie einen zentralen Stellenwert.

Als indirekte Verfahren werden heute die Bestimmung der sog. "Endothelfunktion<sup>w170, 171</sup> und koronaren Flussgeschwindigkeitsreserve<sup>172, 173</sup> eingesetzt. Deren diagnostischer Stellenwert wird jedoch aufgrund widersprüchlicher Ergebnisse hinsichtlich ihrer Aussagekraft über einen Befall der terminalen Strombahn bei TVP kontrovers diskutiert wird.<sup>45, 145, 174, 175</sup>

Die Diagnose einer TVP der terminalen Strombahn mit Hilfe der Untersuchung von rechtsventrikulären Herzmuskelbiopsien wurde erstmals 1985 beschrieben und durch nachfolgende Untersuchungen belegt.<sup>82, 103, 117</sup> Die Klassifikation der International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT)<sup>176, 177</sup> beschreibt jedoch lediglich die phänotypische Erscheinungsform der Kardiomyozyten bzw. begleitender Infiltrate von Immunzellen und verzichtet auf die Graduierung mikrovaskulärer Texturveränderungen und deren myokardialen Folgeschäden. Mangels eines standardisierten Klassifikationssystems für die Beurteilung der terminalen Strombahn ist deren Inzidenz und Ausmaß bis heute unbekannt. Dieser Tatbestand liegt unter anderem darin begründet liegt, dass bislang die prognostische Relevanz der Mikrovaskulopathie für das Überleben der betroffenen Patienten nicht bewiesen wurde.

Gerade im Hinblick auf Patientenkomfort und Risikoreduktion durch nicht-invasive diagnostische Untersuchungen wird die Notwendigkeit bioptischer Untersuchungen bei herztransplantierten Patienten zunehmend diskutiert. Allerdings ist zu beachten, dass die Biopsie das einzige Verfahren ist, das einen direkten Einblick in die Architektur des Myokards und der terminalen Strombahn gewährt.

#### 1.5.2 Epikardiale Koronararterien

Die invasive Charakterisierung der epikardialen TVP erfolgt in der klinischen Routine mit der Koronarangiographie, während der intravaskuläre Ultraschall (IVUS) vornehmlich im Rahmen von wissenschaftlichen Untersuchungen eingesetzt wird.<sup>53, 65</sup>

Die Sensitivität der koronarangiographischen Untersuchung in der Diagnostik einer TVP wird kontrovers diskutiert oder sogar als unzureichend eingestuft.<sup>88, 178</sup> Sicher ist, dass die konventionell nach Lokalisation und Ausmaß fokaler Stenosen befundeten koronarangiographischen Untersuchungen Frühstadien der TVP verkennt oder unterschätzt.<sup>88, 151</sup> Tatsache ist jedoch auch, dass sie in einem Untersuchungsgang die Gesamtbeurteilung des Koronararterienbaums zulässt und somit die Bewertung von kleinen Seitenästen und Kollateralkreisläufen erlaubt. Dieses ist bei transplantierten Herzen von wesentlicher Bedeutung, da sich die TVP regional unterschiedlich entwickelt und ein (initialer) Befall der koronaren Hauptäste nicht zwangsweise vorliegen muss. Vor dem Hintergrund der unterschiedlichen morphologischen Erscheinungsbilder einer TVP und arteriosklerotischer Läsionen nicht-transplantierter Herzen steht daher die Sinnhaftigkeit konventionelle koronarangiographische Befunderhebungen auf transplantierte Herzen übertragen zu wollen infrage. Vielmehr sollte geprüft werden, ob nicht unter Berücksichtigung bestehender Klassifikationssysteme diese so erweiterbar sind, dass sie den Anforderungen gerecht werden, die sich im Rahmen der Diagnostik einer TVP stellen. Die 1988 publizierte Stanford-Klassifikation der TVP für die Koronarangiographie<sup>18</sup> (**Tabelle 9**) ist hierbei als erster Ansatz zu werten.

## Tabelle 9:Stanford-Klassifikation der Transplantatvaskulopathie in derKoronarangiographie

Тур А	diskrete, tubuläre und multiple Stenosen in den proximalen, mittleren oder distalen Blutgefäßästen
Тур В1	proximal normalweite Blutgefäße mit distale abrupten, konzentrischen Verengungen und
	Obliterationen
Тур В2	proximal verengte Blutgefäße mit einer zunehmenden, konzentrischen Verengung nach distal
Тур С	distal irregulär verengte Blutgefäße mit Wandunregelmäßigkeiten und abrupten Blutgefäßabbrüchen

Es handelt sich bei dieser Klassifikation um eine sog. "Lesion Based Classification", d. h. der koronarangiographische Befund wird nach dem vorherrschenden Läsionstyp graduiert. Dabei ist jedoch nicht definiert, in wieweit das parallele Auftreten von verschiedenen Läsionstypen in die Befundung zu integrieren ist. Daher erfasst diese Klassifikation das Gesamtbild und die Verteilung der Veränderungen in den epikardialen Koronararterien nur unzureichend. Dieses ist wahrscheinlich auch der Grund dafür, dass sich diese Graduierung nicht flächendeckend als Befundungssystem durchgesetzt hat.<sup>11, 43, 83, 104, 116, 147</sup>

Im Gegensatz zur koronarangiographischen Untersuchung erlaubt der IVUS eine morphologische Beurteilung der einzelnen architektonischen Entitäten der Blutgefäßwand.<sup>22, 134, 135</sup> Um vom Spender importierte Koronarläsionen sicher diagnostizieren zu können wird dabei die Durchführung eines IVUS innerhalb der ersten Wochen nach HTx gefordert.<sup>47</sup> Der flächendeckende Einsatz dieses Untersuchungsmittels wird allerdings durch einen erheblichen finanziellen Aufwand und der derzeit zur Verfügung stehenden Abmessungen der IVUS-Katheter limitiert. Der aktuell verfügbare kleinste IVUS-Katheter mit einem Durchmesser von 1 mm (3F) erlaubt in der Regel nur eine Beurteilung der proximalen und medialen Drittel der Koronararterien und nur in Ausnahmefällen die Bewertung distal gelegener Blutgefäßabschnitte.<sup>22</sup> Aufgrund der physiologischen Gegebenheiten bei Kindern ist auch hier der Einsatz dieser Methode limitiert. Problembehaftet ist ebenso die klinische Praxis, dass der IVUS nicht routinemäßig mit einem automatischen Pull-Back-System durchgeführt wird, das die gleichmäßige Beurteilung der Koronararterien sondern meistens alleine der R. interventricularis anterior bewertet werden, begrenzen derzeit seine Aussagekraft.<sup>43, 135</sup> Im Jahre 1992 wurde auch für die TVP im IVUS eine Stanford-Klassifikation<sup>135</sup> veröffentlicht, die in **Tabelle 10** abgebildet ist.

 Tabelle 10:
 Stanford-Klassifikation der Transplantatvaskulopathie im IVUS

0	keine intimale Hyperplasie
I	intimale Hyperplasie <0,3 mm, betrifft <180° des Blutgefäßes
II	intimale Hyperplasie <0,3 mm, betrifft >180° des Blutgefäßes
III	intimale Hyperplasie 0,3–0,5 mm, betrifft <180° des Blutgefäßes
IV	intimale Hyperplasie >0,5 mm, betrifft >180° des Blutgefäßes oder insgesamt >1 mm

Der Vorteil des IVUS besteht dennoch darin, dass er wie die Histologie den Querschnitt des Blutgefäßes und damit das Verhältnis von Blutgefäßwand zu luminaler Fläche beurteilen kann. Der Nachteil der o. g. Klassifikation ist jedoch, dass in Anlehnung an die Morphologie der koronaren Herzkrankheit nicht-transplantierter Herzen und unter Vernachlässigung der Verteilung epikardialer Veränderungen das Ausmaß der TVP nach der höchstgradigen Läsion graduiert wird. Wider dem Wissen, die Ausdehnung und damit den Schweregrad der TVP mit diesem Graduierungssystem nicht erfassen zu können, findet diese Klassifikation dennoch weite Verbreitung.

Neben der invasiven Untersuchung koronarer Veränderungen besteht die Möglichkeit, fokale epikardiale Koronarveränderungen einschließlich Verkalkungen der Herzkranzgefäße nicht-invasiv mit Hilfe der Computertomographie zu diagnostizieren.<sup>89, 179</sup> Als weiteres nicht-invasives diagnostisches Instrument ist die Echokardiographie und insbesondere der gepulste Gewebedoppler zu nennen, die die myokardialen Folgezustände bei TVP visualisieren.<sup>131, 132</sup> Andere nicht-invasive Methoden<sup>72, 94</sup> werden zurückhaltend eingesetzt, da sie lediglich eine geringe diagnostische Sensitivität aufweisen. Der Nutzen des zur nicht-invasiven zellulären Rejektionsüberwachung eingesetzten intramyokardialen Elekrogramms (IMEG) für die Diagnose einer TVP bleibt offen.<sup>180, 181</sup>

#### 1.6 Therapie

Vor dem Hintergrund der identifizierten immunologischen und nicht-immunologischen Mechanismen fokussieren die therapeutischen Ansätze auf immunsuppressive bzw. -modulatorische, antiproliferative und hämostasiologisch aktive Substanzen.

Im Tiermodell konnte eine Reduktion der Intimahyperplasie unter ACE-Hemmern,<sup>130</sup> Statinen,<sup>12, 77, 79</sup> Angiotensin-1-Rezeptorantagonisten,<sup>182</sup> und Kalzium-Kanal-Blockern<sup>30</sup> gezeigt werden. Einzelne Berichte finden sich zu einem positiven Effekt von Fischöl,<sup>9</sup> Angiopeptin (Somatostatinanalogon),<sup>24</sup> Heparin,<sup>21</sup> und Östrogenen.<sup>123</sup> Die Option der Toleranzinduktion wurde bereits im Jahre 1995 diskutiert,<sup>81</sup> ist aber bis heute nicht über den experimentellen Status hinausgewachsen.<sup>41, 183</sup> Zu beachten ist jedoch, dass die beschriebenen therapeutischen Ansätze nicht nur auf einer Reihe sehr heterogener Tiermodelle sondern auch auf die Betrachtung unterschiedlicher Zielorgane (Herz, Aorta) basieren. Hinzu kommt, dass sich die Bewertung der TVP im Tiermodell auf die morphologische Entität der Intimahyperplasie beschränkt, die wie oben erläutert beim Menschen nur einen Teilaspekt der vaskulären Veränderungen im Rahmen einer TVP beschreibt. Diese Limitationen spiegeln sich letztendlich auch in den tatsächlich realisierten klinischen Studien und deren z. T. ernüchternden Ergebnissen wider.

Die ältesten Berichte über eine nicht-immunsuppressive Therapie der TVP beim Menschen finden sich in den 90iger Jahren zum Einsatz von Kalzium-Kanal-Blockern.<sup>20, 23, 184</sup> Die größte Gruppe der Publikationen befasst sich bis heute mit dem therapeutischen Effekt von Statinen. Dabei konnte für Simvastatin alleine oder in Kombination mit dem HELP- (Heparin-binding Extracorporeal LDL-Precipitation) System eine Senkung der Inzidenz, Verlangsamung der Progression sowie eine Regression vaskulopathischer Veränderungen nach HTx gezeigt werden.<sup>115, 147, 185</sup> Ähnliche positive Effekte wurden durch Kobashigawa et al.,<sup>98</sup> Ballantyne et al.,<sup>13</sup> und Mahle et al.<sup>83</sup> für Pravastatin demonstriert. Einzelne Berichte zeigen, dass auch unter einer Behandlung mittels Photopherese,<sup>104</sup> Vitamin C und E,<sup>11</sup> und Angiopeptin<sup>116</sup> die Inzidenz und Progression der TVP zu senken ist.

Die Erfolge bezüglich einer Prävention bzw. Therapie der TVP mittels verschiedener immunsuppressiver Regimen sind eher ernüchternd. Für verschiedene Kalzineurin-Inhibitoren konnte klinisch bislang kein Einfluss auf die Entwicklung und Progredienz einer TVP demonstriert werden.<sup>186</sup> Eine erhöhte immunsuppressive Therapie wurde von Lamich et al. diskutiert,<sup>37</sup> die sich vornehmlich an dem positiven Effekt einer aggressiven Therapie von akuten zellulären Abstoßungsepisoden orientiert. Optimistische Ergebnisse zeigt dagegen eine prospektive, randomisierte, doppel-blinde Studie für den Einsatz von Everolimus,<sup>43</sup> wobei hier die Langzeiteffekte von besonderem Interesse sein werden.

Bei kritischer Betrachtung der vorliegenden Literatur ist festzustellen, dass die durchgeführten Studien nicht einheitlich konzipiert wurden, betreffend den Zeitpunkt des Medikationsbeginns, der Dosierung der Medikamente und Auswahl der geprüften Präparate, der Dauer des Follow ups, der eingesetzten diagnostischen Methoden und Graduierungssysteme zur Feststellung der TVP sowie des Studiendesigns. Tatsächlich beschränken sich prospektive, randomisiert und doppel-blind konzipierte Studien auf wenige Publikationen, die alle auf die epikardiale Manifestationsform der TVP ausgerichtet sind,<sup>11, 43, 116</sup> obwohl eine fundierte Datenbasis für den generalisierten Transplantatbefall durch die TVP vorliegt (s. Tabelle 4). Bis heute wurde kein Versuch unternommen, eine Therapiestrategie für die TVP der intramuralen Blutgefäße und terminalen Strombahn zu entwickeln oder sogar klinisch zu prüfen. Solange auf diesen Aspekt der TVP in therapeutischen Studien weiterhin verzichtet wird, entbehren jegliche aktuelle und zukünftige Versuche auf diesem Gebiet dem Fundament für eine optimistische Bewertung neuer Behandlungsoptionen. Darüber hinaus wird die TVP nach HTx unter den vorgenannten Bedingungen auch weiterhin eine unbeherrschbare Komplikation im Langzeitverlauf bleiben, solange bis hinreichend intellektuelle Klarheit über ihre morphologischen Substrate geschaffen wird, adäquate diagnostische Instrumente und deren gezielter Einsatz zu definierten Zeitpunkten nach HTx etabliert sowie die Determinanten ihrer Manifestationsformen charakterisiert werden. Aus den gleichen Gründen sind alle kardiologisch-interventionellen und operativen Therapieoptionen langfristig ohne Erfolgsaussichten, auch wenn die primären Erfolgsraten der Koronarangioplastie mit denen einer koronaren Herzkrankheit in nichttransplantierten Herzen vergleichbar sind.<sup>48, 110, 187</sup> Die hier publizierten Studien an herztransplantierten Patienten sind zwangsweise durch kleine Zielpopulationen ohne Langzeit-Follow ups gekennzeichnet, denn die einer interventionellen Therapie zugänglichen Manifestationsformen der TVP beschränken sich auf ein Patientengut von ca. 20% potentieller Kandidaten.<sup>35, 75</sup> Vor diesem Hintergrund sind auch die angegebenen Überlebensraten nach Intervention von 74%<sup>33, 110, 187</sup> bis maximal 100%<sup>48</sup> kritisch zu betrachten. Mit derselben Problematik sind die Ergebnisse der aortokoronaren Bypassoperation mit oder ohne transmyokardialer Laserrevaskularisation behaftet.<sup>10, 34, 110</sup>

Zur Zeit ist die einzige effektive Therapie die Retransplantation,<sup>2, 49, 110, 188</sup> die aufgrund des fortwährenden Mangels an Spenderorganen und der erhöhten Rekurrenz der TVP im neuen

27

Transplantat vermutlich nur eine Behandlungsoption für eine Minderheit der betroffenen Patienten bleiben wird.

### II. Retrospektive Untersuchungen zur Mikrovaskulopathie nach HTx

### 2.1 Ziele

Unter Berücksichtigung der vorgestellten Literatur lässt sich der Bedarf an intellektueller Klarheit zum Phänomen der TVP wie folgt zusammenfassen: Es steht derzeit kein standardisiertes, für die klinische Praxis validiertes Graduierungssystem zur Verfügung, dass das Ausmaß der TVP auf mikrovaskulärer Ebene hinreichend präzisiert. Weder die kausale noch die formale Pathogenese der Mikrovaskulopathie nach HTx wurden bis heute angemessen charakterisiert. Obwohl der generalisierte Befall des koronaren Strombettes durch die TVP gesichert ist, ist deren prognostische Bedeutung für das Überleben nach HTx nicht belegt.

Um in diesem Hinblick den derzeitigen Wissensstand zur Mikrovaskulopathie nach HTx zu ergänzen, wurden in der vorliegenden retrospektiven Studie insgesamt 873 Patienten und 9.713 Befunde rechtsventrikulärer Biopsieproben untersucht, um folgende Fragen zu beantworten:

- (A) Hat die Mikrovaskulopathie einen Einfluss auf das Langzeitüberleben nach Herztransplantation?
- (B) Welche neben der Mikrovaskulopathie bioptisch nachweisbaren Faktoren beeinflussen das Überleben nach Herztransplantation?
- (C) Hat das Empfänger- oder Spendergeschlecht einen Einfluss auf die Prävalenz oder den klinischen Verlauf dieser Erkrankung?
- (D) Gibt es Risikofaktoren für die Entwicklung einer Mikrovaskulopathie und welche klinischen Konsequenzen sind daraus abzuleiten?

#### 2.2 Patienten

Am Deutschen Herzzentrum Berlin unterzogen sich zwischen 04/86 und 12/02 insgesamt 1.348 Patienten einer primären HTx. Nach Ausschluss pädiatrischer Patienten (Alter <18 Jahre), Patienten die innerhalb der ersten 30 Tage nach HTx verstarben und Patienten ohne bioptisches Follow up innerhalb des ersten Jahres nach HTx wurden 873 Transplantatempfänger weiter untersucht. Die Mehrzahl der Patienten waren Männer (83%) und die führende Indikation zur HTx stellte die dilatative Kardiomyopathie dar (64%). Das mittlere Alter bei HTx betrug 49,1±0,6 Jahre und die mediane Überlebenszeit inbegriffen der Zeit bis zu einer kardialen Re-Transplantation 12,4 Jahre (95% Konfidenzintervall 11,4–13,5 Jahre).

Die Immunsuppression nach HTx bestand aus Cyclosporin A 2–4mg/kg (Zielspiegel 250ng/ml, n=829 [95%]) oder Tacrolimus (Zielspiegel 8–10ng/ml, n=44 [5%]), Mycophenolat 30–50mg/kg (Zieldosis 2–3g/Tag, Leukozytenanzahl nicht  $\leq$ 3,500/µl, n=262 [30%]) oder Azathioprin 1–5mg/kg (Leukozytenanzahl nicht  $\leq$ 3,500/µl, n=611 [70%]) und Prednisolon (Zieldosis 0.15 mg/kg nach zwei Monaten). Die Zielspiegel von Cyclosproin A wurden anhand eines Enzym-Immuno-Assays adaptiert. Akute zelluläre Rejektionen Grad 1A–2<sup>176, 177</sup> wurden über 10 Tage mit einem oralen Kortisonschema therapiert. Alle zellulären Rejektionen des Grades 3A oder höher<sup>176, 177</sup> oder klinisch symptomatische

Abstoßungen wurden für drei Tage intravenös mit polyklonalen Antikörpern (Anti-Thymozyten-Globulin) und Steroiden behandelt.

#### 2.3 Methoden

#### 2.3.1 Biopsiegewinnung und histologische Aufbereitung

Den Patienten (n=873) wurden im Rahmen ihrer Nachuntersuchungen (0 Tage – 13,4 Jahre nach HTx) insgesamt 14.080 rechtsventrikuläre Endomyokardbiopsieproben entnommen. Die Proben wurden gemäß klinischem Standard durch einen rechtsventrikulären Zugang im Bereich des Interventrikularseptums gewonnen.<sup>177</sup> Da die großen septalen Äste ihren Ursprung im R. interventricularis anterior nehmen<sup>189, 190</sup> und die septal-apikale Region des rechten Ventrikels über Anastomosen aller drei großen Herzkranzgefäße verfügt,<sup>191</sup> wurden in dem gewonnen Material hauptsächlich Endäste der linken Koronararterie untersucht. Die Kapillardichte der terminalen Strombahn steht in direktem Bezug zur Dichte der Kardiomyozyten,<sup>192</sup> die sich nicht signifikant im linken und rechten Ventrikel und dem Interventrikularseptum unterscheidet.<sup>193</sup> Im Rahmen einer Biopsieentnahme nach HTx werden routinemäßig mindestens drei Gewebeproben entnommen und morphologisch untersucht. Wird eine Kantenlänge von 1,0–1,5 mm mit zylindrischer Form vorausgesetzt, ergibt sich für jede Probe eine Fläche von 1,5–2,5 mm<sup>2</sup>. Bei Entnahme von mindestens drei Proben resultiert daraus eine Fläche von 4,5–7,5 mm<sup>2</sup>. Da histologische Schnitte routinemäßig in drei Schnittebenen angefertigt werden, beträgt die Gesamtfläche einer Herzbiopsie 13,5-22,5 mm<sup>2</sup>, die zur morphologischen Begutachtung zur Verfügung steht. Rechtsventrikuläre Biopsieproben verfügen über eine exzellente arterioläre (103±31 Gefäße/mm<sup>2</sup>) und kapilläre Vaskularisierung (667±147 Gefäße/mm<sup>2</sup>),<sup>8</sup> so dass eine repräsentative Beurteilung der terminalen Strombahn gewährleistet ist.

Die histologische Aufbereitung der Gewebeproben erfolgte mittels Standard-H&E-Färbung (Mayer's Hemalum und Eosin, Merck ®). Von den 14.080 Biopsien wurden 9.713 (69%) Proben innerhalb des ersten Jahres nach HTx gewonnen. Es wurden nur diese Biopsien weiter evaluiert um zu prüfen, ob der frühe bioptische Nachweis mikrovaskulärer Veränderungen Patienten mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten letaler kardialer Ereignisse identifiziert und ob frühe bioptische Surrogatmarker für die Entwicklung dieser mikrovaskulären Veränderungen feststellbar sind.

Die Biopsieproben (11±1 Biopsien je Patient, Männer 8.8±0.3 vs. Frauen 9.1±0.8; p=0.704) wurden anhand ihres Entnahmezeitpunktes zu bestimmten Zeitintervallen innerhalb des ersten Jahres nach HTx zugeordnet:  $\leq$ 30 Tage, >30–90 Tage, >90–180 Tage, 181–270 Tage und 271–365 Tage (**Tabelle 11**). Um residuelle, potentiell destruktive Effekte wie Ödeme der Kardiomyozyten oder der Endothelzellen auszuschließen, die durch den Transplantationseingriff selbst bedingt sein können,<sup>194</sup> wurden die innerhalb der ersten 30 Tage nach HTx gewonnen Biopsien (n=1.957) in den nachfolgenden Analysen separat geprüft. Hier zeigte sich allerdings kein signifikanter Effekt auf die Ergebnisse. Alle Biopsien, die aus re-transplantierten Herzen entstammten, wurden von der Analyse ausgeschlossen. Die Bewertung der Gewebeproben erfolgte verblindet gegenüber den klinischen Merkmalen der Patienten.

Anzahl Biopsien	Biopsien je Patient	Mindestanzahl Biopsien zur
	(Mittelwert $\pm$ SD)	Diagnosesicherung <sup>1</sup>
1.957	2,2±1,5	4
3.313	3,8±3,2	7
2.251	2,6±3,2	7
1.264	1,5±2,1	4
922	1,1±1,7	3
	Anzahl Biopsien 1.957 3.313 2.251 1.264 922	Anzahl Biopsien         Biopsien je Patient (Mittelwert ± SD)           1.957         2,2±1,5           3.313         3,8±3,2           2.251         2,6±3,2           1.264         1,5±2,1           922         1,1±1,7

Tabelle 11:	Unterteilung der Biopsien gemäß Entnahmezeitpunkt innerhalb des
	ersten Jahren nach Herztransplantation

Angaben als Mittelwert ± Standardabweichung (SD); <sup>1</sup>90% Perzentile

#### 2.3.2 Diagnose der Mikrovaskulopathie

Klinisch manifestiert sich eine diffuse Verdickung der Blutgefäßwand durch eine Versteifung mit verminderter Dehnbarkeit des betroffenen koronaren Gefäßbettes.<sup>195</sup> In eigenen Voruntersuchungen konnte gezeigt werden, dass es nach HTx in der terminalen Strombahn zu einer Zunahme Alpha-Aktin-positiver Zellen in den Blutgefäßwänden kommt, die zu einer vaskulären Architekturstörung führt.<sup>7, 8, 149</sup> Diese Architekturstörung ist durch eine Zunahme der Wanddicke von Arteriolen und dem Phänotypenwechsel von Kapillaren zu Arteriolen gekennzeichnet und mündet in einer Verschiebung des physiologischen Verhältnisses von luminalem Durchmesser zu Wanddurchmesser. Unter der Vorstellung, dass eine Lumen-zu-Wand-Ratio die verminderte Dehnbarkeit der mikrovaskulären Strombahn widerspiegelt, sollte dieser Parameter eine erhöhte Empfindlichkeit des Myokards für ischämische Ereignisse anzeigen, das sich klinisch als Transplantatversagen, akuter Myokardinfarkt oder plötzlicher Herztod manifestiert. Das im folgenden präsentierte Graduierungssystem wurde in Anlehnung an histomorphometrische Untersuchungen großer peripherer Arterien erarbeitet, in denen das physiologische Verhältnis von luminalem Radius zum Durchmesser der Blutgefäßwand bestimmt wurde.<sup>196</sup>

Die Bewertung mikrovaskulärer Veränderungen wurde anhand lichtmikroskopischer Untersuchungen (x200) vorgenommen und die pathologischen Befunde gemäß des in **Abbildung 1** dargestellten Graduierungssystems klassifiziert. In den Blutgefäßen der terminalen Strombahn (Durchmesser 10–20  $\mu$ m) wurden die Endothelzellschicht und die Media identifiziert. Das Endothel wurde als Mono-Zellschicht am inneren Rand des Blutgefäßes definiert. Es wurde als unauffällig bewertet, wenn es sich um eine dünne Zellschicht handelte, deren Zelldurchmesser geringer war als der ihrer Zellkerne (**A**, **Abbildung 1**). Die Endothelschicht wurde als prominent bewertet, wenn der Durchmesser der Zellkörper mindestens dem Durchmesser ihrer Zellkerne entsprach (**C**, **Abbildung 1**).<sup>194</sup>

Als Media wurde die außen an das Endothel angrenzende mehrzellige Schicht definiert. Sie wurde als unauffällig eingestuft, wenn ihr Durchmesser geringer war als der luminale Radius (**A, Abbildung 1**).

Eine nicht-stenosierende Mediaverdickung wurde angenommen, wenn das Verhältnis luminaler Radius zu Mediadurchmesser <3 aber  $\geq$ 1 betrug, und eine stenosierende Mediaverdickung wurde bei einem Verhältnis von <1 festgelegt.

Eine stenosierende Mikrovaskulopathie (MVP) wurde dann diagnostiziert, wenn sich aufgrund einer Endothelzell- und/oder Mediaverdickung mikrovaskuläre Stenosen in mindestens einem Blutgefäß je Gesichtsfeld fanden (**C u. D, Abbildung 1**). Die Adventitia wurde nicht separat bewertet.



Abbildung 1: Graduierungssystem für mikrovaskuläre Veränderungen in rechtsventrikulären Biopsieproben herztransplantierter Patienten

### 2.3.3 Diagnose des Quilty-Phänomens

Das Quilty-Phänomen ist durch ein noduläres, subendokardiales Lymphozyteninfiltrat gekennzeichnet, das ausschließlich im Myokard herztransplantierter Patienten zu finden ist.<sup>113</sup> Diese Infiltrate bestehen aus Clustern von Immunzellen, die vornehmlich durch B-Zell-positive und CD4-positive Lymphozyten gebildet werden.<sup>197, 198</sup> Gemäß internationalem Standard wurde das Quilty-Phänomen in eine nicht-invasive Form (Quilty A) und in eine invasive Form (Quilty B) graduiert (**Abbildung 2**).<sup>197, 198</sup>



Abbildung 2: (A) und (B) invasiver Quilty (H&E)

#### 2.3.4 Diagnose akuter zellulärer Rejektionen

Unabhängig von der Bewertung der terminalen Strombahn und des Quilty-Phänomens wurde in den Biopsien die akute zelluläre Rejektion gemäß der International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) bewertet.<sup>176, 177</sup>

#### 2.3.5 Definition der epikardialen Transplantatvaskulopathie

Von den 873 untersuchten Patienten unterzogen sich 611 (70%) nach HTx mindestens einer koronarangiographischen Untersuchung. Als Bewertungskriterium für eine schwere TVP wurde das Bestehen von mindestens einer ≥75%igen luminalen Stenose festgelegt, da dieser Befund hochspezifisch und gut reproduzierbar ist.<sup>71</sup> Darüber hinaus werden Patienten mit diesem Stenosegrad gemäß klinischer Praxis einer Koronarangioplastie zugeführt. Da beschrieben ist, dass die Koronarangioplastie das Überleben der betroffenen Patienten verlängert,<sup>75</sup> wurde damit gleichzeitig ein potentieller Bias-Faktor für die statistische Analyse definiert.

#### 2.3.6 Statistik

Für die statistische Analyse wurde SPSS für Windows (Version 11.1) verwendet. Die Ergebnisse sind als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes angegeben. Die demographischen Daten der Patienten wurden anhand des  $\chi^2$ -Test oder Student T-Test verglichen.

Die Überlebensanalysen und die Zeit bis Erreichen der definierten Endpunkte wurden anhand der Kaplan-Meier Schätzung berechnet. Es wurden zwei kombinierte Endpunkte festgelegt:

(a) Gesamtüberleben, definiert als Zeit bis zur Re-HTx (n=16) oder zum Tod jeglicher Ursache, d. h. TVP (inklusive Transplantatversagen, akuter Myokardinfarkt, plötzlicher Herztod), akute zelluläre Rejektion, maligne Erkrankung (inklusive Lymphome), Infektion (inklusive Zytomegalievirus), primäres Transplantatversagen, Multiorganversagen, Nierenversagen, pulmonale Ursachen, zerebrovaskuläre Ursachen oder andere.<sup>3, 43</sup>

(b) Zeit bis zur Re-HTx (n=16) oder zum Auftreten eines letalen kardialen Ereignisses als typische klinische Manifestation einer TVP, d. h. Transplantatversagen, akuter Myokardinfarkt oder plötzlicher Herztod.<sup>4</sup>

Das Überleben in verschiedenen Patientengruppen wurde mit dem Log-Rank-Test verglichen. Als Gruppenvariablen für die Kaplan-Meier Analysen wurden festgelegt:

(1) Nachweis mindestens einer Biopsie mit pathologischen Veränderungen der terminalen Strombahn in der Gesamtstichprobe und

(2) Nachweis mindestens einer Biopsie mit pathologischen Veränderungen der terminalen Strombahn in einem der definierten Zeitintervalle.

Ein proportionales Cox-Hazard Modell wurde eingesetzt um mögliche Risikofaktoren für das Auftreten schwerer kardialer Ereignisse oder einer Re-HTx zu identifizieren. Odds Ratio wurde für das Auftreten einer MVP jenseits von drei Monaten nach HTx berechnet, wenn diese bereits in einem vorangehenden Zeitintervall diagnostiziert wurde. Risikofaktoren für die Entwicklung einer MVP wurden anhand der logistischen Regression überprüft. Dem univariaten Ansatz wurde eine multivariate Regressionsanalyse (rückwärts, bedingt) nachgestellt. Um den Effekt des Quilty zu prüfen wurde zwischen Quilty-positiven und Quilty-negativen Patienten unterschieden.<sup>113</sup> Ein p<0,05 wurde als statistisch signifikant angenommen.

### 2.4 Ergebnisse

#### 2.4.1 Prävalenz bioptischer Veränderungen

Eine stenosierende MVP fand sich bei 379/873 (43%) Patienten. Sie war in der Mehrzahl der Fälle auf eine Verdickung der Media (345/379; 91%) zurückzuführen. Luminale Stenosen aufgrund von Endothelzellveränderungen (2/379; 1%) oder einer Kombination aus beidem (31/379; 8%; p<0,001) waren selten. Die Diagnose einer stenosierenden MVP korrelierte signifikant mit dem Befund einer stenosierenden MVP in der nachfolgenden Biopsie (Odds Ratio 2,77; 95% Konfidenzintervall 1,90–4,04; p<0,001). Die Freiheitsrate von einer stenosierenden MVP betrug 3, 6, 9 und 12 Monate nach HTx  $64\pm3\%$ ,  $44\pm3\%$ ,  $35\pm3\%$  und  $32\pm3\%$ .

In der untersuchten Stichprobe fanden sich 1.830 (19%) Quilty-positive Biopsien bei 481 (55%) Quilty-bildenden Patienten. Von diesen zeigten 412 (47%) Patienten einen nicht-invasiven Quilty in 1.148 (12%) Biopsieproben. Ein invasiver Quilty wurde in 682 (7%) Biopsien vom 272 (31%) Patienten nachgewiesen.

Einundfünfzig Prozent (5.005/9.713) der Biopsien zeigten keinen Anhalt für akute zelluläre Abstoßung, ISHLT-Grade 1A–2 fanden sich in 40% (3.864/9.713) und ISHLT-Grade 3A–4 in 9% (864/9.713) der Proben.

#### 2.4.2 Prävalenz der stenosierenden TVP in der Koronarangiographie

Die stenosierende Form der epikardialen TVP zeigte sich bei 118/611 (19%) Patienten nach einer mittleren Zeit von 5,7±0,2 Jahren nach HTx. Eine Eingefäßerkrankung wurde bei 50 (42%) Patienten, eine Zweigefäßerkrankung bei 31 (26%) Patienten und eine Dreigefäßerkrankung bei 37 (34%) Patienten diagnostiziert. Die Freiheitsraten von der stenosierenden epikardialen TVP betrugen nach 1, 3, 5 und 10 Jahren 98,8±0.5%, 96,9±0,8%, 91,6±1,4% und 75,0±2,7%. Da epikardiale Koronarstenosen bei nur 7 (1%) Patienten innerhalb des ersten Jahres nach HTx diagnostiziert wurden, wurde die Sensitivität und Spezifität der Biopsie gegenüber der koronarangiographischen Untersuchung für die Diagnose einer stenosierenden TVP nicht überprüft.

## 2.4.3 Einfluss der Mikrovaskulopathie auf das Langzeitüberleben nach Herztransplantation

Das Gesamtüberleben (mediane Zeit bis Tod oder Re-HTx) der untersuchten Patienten betrug 12,43 Jahre (95% Konfidenzintervall 11,41–13,45 Jahre, **Abbildung 3**).

Unter Betrachtung des gesamten Biopsievolumens des ersten Jahrs nach HTx waren weder der Nachweis von Endothelveränderungen (Median [95% Konfidenzintervall] 12,07 Jahre [10,69–13,44] vs. 12,73 Jahre [10,16–15,30]; p=0.3329) noch das Bestehen nicht-stenosierender Mediaveränderungen (12,44 Jahre [11,14–13,74] vs. 12,43 Jahre [10,51–14,35]; p=0.4047) mit einem verminderten Überleben assoziiert. Auch das Zeitintervall der Biopsieentnahme, in dem der Befund erhoben wurde, war nicht mit einer verminderten Überlebenswahrscheinlichkeit korreliert.

Dagegen war das Auftreten einer stenosierenden MVP signifikant mit einer verkürzten Überlebenszeit assoziiert (10,90 Jahre [9,16–12,60] vs. 13,40 Jahre [11,79–15,07]; p=0,0374, **Abbildung 3**). Eine

verminderte Überlebenszeit fand sich auch, wenn der Befund in einer Biopsie erhoben wurde, die innerhalb von >270–365 Tagen nach HTx gewonnen wurde (8,06 Jahre [2,82–13,29] vs. 13.35 Jahre [11,91–14,79]; p=0.0183). Ohne signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben war die Diagnosestellung in einem der anderen festgelegten Zeitintervalle.

Allerdings stellte sich in der Cox-Regressionsanalyse die stenosierende MVP (RR 1,15, 95% CI 0.93– 1.41, p=0,192) nicht als signifikanter Risikofaktor für das Gesamtüberleben dar.



## Abbildung 3: Kaplan Meier Schätzung des Gesamtüberlebens (Tod oder Re-Herztransplantation) bei Patienten mit und ohne stenosierender Mikrovaskulopathie

MVP+, Patienten mit stenosierender Mikrovaskulopathie (MVP); MVP-, Patienten ohne stenosierende MVP; X-Achse in Jahren (J) nach Herztransplantation Patienten mit stenosierender MVP zeigten eine kürzere Überlebenswahrscheinlichkeit als Patienten ohne MVP.

## 2.4.4 Einfluss der Mikrovaskulopathie auf das Auftreten kardialer Todesfälle

Die Freiheitsraten von letalen kardialen Ereignissen oder Re-HTx (n=552) betrugen nach 1, 5 und 10 Jahren 97,6 $\pm$ 0,7%, 92,6 $\pm$ 1,1% and 83,6 $\pm$ 1,8%.

Der Nachweis von Endothelveränderungen oder nicht-stenosierenden Mediaveränderungen in mindestens einer Biopsie war nicht mit dem Auftreten fataler kardialer Ereignisse assoziiert, unabhängig vom Zeitpunkt der Diagnosesicherung gemäß den festgelegten Zeitintervallen.
Nur der Nachweis einer stenosierenden MVP war mit dem Auftreten kardialer Todesfälle assoziiert (**Abbildung 4**), und dieser Effekt war unabhängig von dem Bestehen einer stenosierenden epikardialen TVP.



### Abbildung 4: Kaplan Meier Schätzung für das Auftreten fataler kardialer Ereignisse<sup>1</sup> bei Patienten mit und ohne stenosierende Mikrovaskulopathie

<sup>1</sup>tödlicher akuter Myokardinfarkt, tödliches Transplantatversagen, plötzlicher Herztod, Re-Herztransplantation; MVP+, Patienten mit stenosierender Mikrovaskulopathie (MVP); MVP-, Patienten ohne stenosierende MVP; X-Achse in Jahren (J) nach Herztransplantation

Der Befund einer stenosierenden MVP war mit dem Auftreten kardialer Todesfälle oder der Re-HTx assoziiert, unabhängig vom Bestehen einer stenosierenden epikardialen TVP.

Bereits der Nachweis innerhalb der ersten drei Monate nach HTx verringerte die ereignisfreie Überlebenswahrscheinlichkeit und dieser Effekt zeigte umso mehr Relevanz, wenn die stenosierende MVP am Ende des ersten Jahres nach HTx diagnostiziert wurde (**Abbildung 5**).



Abbildung 5: Kaplan Meier Schätzung für das Auftreten fataler kardialer Ereignisse<sup>1</sup> unter Berücksichtigung des Zeitpunktes der Diagnose einer stenosierenden Mikrovaskulopathie

<sup>1</sup>tödlicher akuter Myokardinfarkt, tödliches Transplantatversagen, plötzlicher Herztod, Re-Herztransplantation; MVP+ >30–90d, Patienten mit stenosierender Mikrovaskulopathie (MVP) in mindestens einer Biopsie, gewonnen >30–90 Tage nach Herztransplantation; MVP+ >270–365d, Patienten mit stenosierender Mikrovaskulopathie (MVP) in mindestens einer Biopsie, gewonnen >270–365 Tage nach Herztransplantation; MVP-, Patienten ohne stenosierende MVP; X-Achse in Jahren (J) nach Herztransplantation

Der Nachweis einer stenosierenden MVP war sowohl innerhalb von >30–90 Tagen als auch >270–365 Tagen nach HTx mit dem mit dem Auftreten kardialer Todesfälle oder der Re-HTx assoziiert.

In der univariaten Regressionsanalyse (**Tabelle 12**) zeigten neben der stenosierenden MVP auch der CMV-Status bei HTx, das Spenderalter, ein bestehender arterieller Hypertonus und behandelter Diabetes mellitus eine Assoziation mit dem Auftreten schwerer kardialer Ereignisse. Die epikardiale TVP und der Transplantationszeitraum <1992 waren ebenso mit der Rate kardialer Ereignisse korreliert wie die Anzahl und der Schweregrad akuter zellulärer Rejektionen.

Allerdings waren in der multivariaten Regressionsanalyse (**Tabelle 12**) nur die stenosierende MVP (Risk Ratio [95% Konfidenzintervall] 1,93 [1,20–3,08]; p=0.006), ein behandelter Diabetes mellitus (1,77 [1,12–2,81]; p=0,015) und die epikardiale TVP (2,63 [1,67–4,16]; p<0,0001) mit der Rate kardialer Ereignisse assoziiert.

Parameter	Univariate RR (95% CI)	Multivariate RR (95% CI)
Empfängeralter bei HTx	_	-
Indikation zur HTx (dKMP vs. KHK)	0,86 (0,55–1,36)	-
Empfänger weiblich	0,41 (0,19–0,84)	_
Empfänger CMV+ bei HTx	1,96 (1,13–3,41)	-
Assist-Device vor HTx	-	-
Transplantationsjahr	0,52 (0,36–0,75)	-
<′92 vs. ≥′97	3,83 (1,51–9,72)	_
′93–′96 vs. ≥′97	_	_
Ischämiezeit	_	-
Reperfusionszeit	-	-
Spender weiblich	-	-
Spender CMV+	-	-
Spenderalter	1,02 (1,01–1,04)	-
Diabetes mellitus nach HTx	1,81 (1,19–2,75)	1,77 (1,12–2,81)
Arterieller Hypertonus nach HTx	0,48 (0,23–0,99)	-
Hyperlipoproteinämie nach HTx	0,47 (0,31–0,72)	
Niereninsuffizienz nach HTx <sup>1</sup>	-	-
Hämodialyse nach HTx	-	-
CMV-Infektion nach HTx	-	-
Epikardiale TVP	2,83 (1,80–4,44)	2,63 (1,67–4,16)
1-Gefäßbefall	2,28 (1,17–4,42)	-
2-Gefäßbefall	3,23 (1,57–6,65)	-
3-Gefäßbefall	3,19 (1,74–5,84)	-
RIVA betroffen	2,88 (1,80–4,63)	-
RCX betroffen	2,96 (1,83–4,81)	-
RCA betroffen	2,19 (1,33–3,63)	-
Stenosierende MVP	2,27 (1,48–3,47)	1,93 (1,20–3,08)
Nicht-stenosierende MVP	2,00 (1,13–3,59)	-
Endothelveränderung	2,00 (1,13–3,37)	-

# Tabelle 12:Proportionales Cox-Hazard Modell für das Auftreten schwerer kardialerEreignisse

<sup>1</sup>Kreatinin im Serum >1,6 mg/dl; CI, Konfidenzintervall; CMV, Zytomegalievirus; HTx, Herztransplantation; KHK, koronare Herzerkrankung; MVP, Mikrovaskulopathie; RCA, A. coronaria dextra; RCX, R. circumflexus; RIVA, R. interventricularis anterior; RR, Risk Ratio; TVP, Transplantatvaskulopathie

interventricularis anterior; RR, Risk Ratio; TVP, Transplantatvaskulopathie In der multivariaten Regressionsanalyse waren die stenosierende MVP, ein behandelter Diabetes mellitus und die epikardiale TVP signifikant mit der Rate kardialer Ereignisse korreliert.

### 2.4.5 Die Bedeutung des Quilty für den klinischen Verlauf der stenosierenden Mikrovaskulopathie

Das Gesamtüberleben der Patienten mit und ohne Quilty bzw. stenosierender MVP ist in der **Abbildung 6** dargestellt. Dieses war bei Bestehen mindestens eines Quilty-Infiltrates (p=0,0045) oder einer stenosierenden MVP (p=0,0472) im ersten Jahr nach HTx signifikant reduziert. Die Überlebenswahrscheinlichkeit war noch geringer, wenn Patienten sowohl einen Quilty als auch eine stenosierende MVP ausbildeten (p=0,0147). Allerdings zeigte sich in der Cox-Regressionsanalyse nur der Quilty als signifikanter Risikofaktor für das Gesamtüberleben (Risk Ratio [RR] 1,35, 95% Konfidenzintervall [CI] 1,10–1.66; p=0,005), nicht jedoch die stenosierende MVP alleine (RR 1,15, 95% CI 0.93–1.41, p=0,192, **s. auch Kapitel 2.4.3**).



# Abbildung 6: Kaplan Meier Schätzung des Gesamtüberlebens bei Patienten mit und

#### ohne stenosierender Mikrovaskulopathie bzw. Quilty

MVP+, Patienten mit stenosierender Mikrovaskulopathie (MVP); MVP+, Quilty+, Patienten mit stenosierender Mikrovaskulopathie und Quilty; MVP-, Quilty-, Patienten ohne stenosierende Mikrovaskulopathie oder Quilty; Quilty+, Patienten mit Quilty

Sowohl der Nachweis des Quilty als auch der stenosierenden MVP im ersten Jahr nach HTx waren mit einer geringen Überlebenswahrscheinlichkeit korreliert. Das Überleben nahm weiter ab, wenn beide Faktoren innerhalb des ersten Jahres nach HTx nachweisbar waren.

Die Kaplan Meier Schätzung für das Auftreten schwerer kardialer Ereignisse (tödlicher akuter Myokardinfarkt, tödliches Transplantatversagen, plötzlicher Herztod, Re-HTx) bei Patienten mit und

ohne stenosierende MVP bzw. Quilty ist in **Abbildung 7** dargelegt. Patienten mit stenosierender MVP (p=0.0002) oder Quilty (p=0.0060) zeigten eine signifikant höhere Wahrscheinlichkeit ein schweres kardiales Ereignis zu erleiden als Patienten ohne diese bioptischen Befunde. Die geschätzte Freiheitsrate von schweren kardialen Ereignissen war noch geringer, wenn Patienten sowohl eine stenosierende MVP als auch mindestens einen Quilty innerhalb der ersten Jahres nach HTx aufwiesen (p=0.0017).



# Abbildung 7:Kaplan Meier Schätzung für das Auftreten fataler kardialer Ereignisse1bei Patienten mit und ohne stenosierende Mikrovaskulopathie bzw.Quilty

<sup>1</sup>tödlicher akuter Myokardinfarkt, tödliches Transplantatversagen, plötzlicher Herztod, Re-Herztransplantation; MVP+, Patienten mit stenosierender Mikrovaskulopathie (MVP)

MVP+, Quilty+, Patienten mit stenosierender Mikrovaskulopathie und Quilty; MVP-, Quilty-, Patienten ohne stenosierende Mikrovaskulopathie oder Quilty; Quilty+, Patienten mit Quilty

Sowohl der Nachweis des Quilty als auch der stenosierenden MVP im ersten Jahr nach HTx waren mit einer höheren Rate fataler kardialer Ereignisse verbunden. Die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines fatalen kardialen Ereignisses nahm weiter zu, wenn beide Faktoren innerhalb des ersten Jahres nach HTx nachweisbar waren.

In der logistischen Regressionsanalyse waren sowohl die stenosierende MVP (RR 2,01, 95% CI 1.32– 3,06; p=0,001) als auch der Quilty (RR 1,70, 95% CI 1,02–2,84; p=0,043) signifikant mit dem Auftreten schwerer kardialer Ereignisse assoziiert (**Tabelle 13**).

# Tabelle 13:Multivariates Cox-Hazard Modell für das Auftreten fataler kardialerEreignisse<sup>1</sup> bei Bestehen einer Mikrovaskulopathie und des Quilty

Parameter	Multivariate RR (95% CI)	Р
Stenosierende MVP	2,01 (1,32–3,06)	<0,001
Quilty+	1,70 (1,02–2,84)	0.043

<sup>1</sup>tödlicher akuter Myokardinfarkt, tödliches Transplantatversagen, plötzlicher Herztod, Re-Herztransplantation; CI, Konfidenzintervall; HTx, Herztransplantation; MVP, Mikrovaskulopathie; RR, Risk Ratio *In der logistischen Regressionsanalyse zeigten sowohl der Quilty als auch die stenosierende MVP eine signifikante Korrelation mit dem Auftreten fataler kardialer Ereignisse.* 

## 2.4.6 Die Mikrovaskulopathie beeinträchtigt nicht die günstigere Prognose von Frauen nach Herztransplantation

# 2.4.6.1 Klinische Charakterisierung der männlichen und weiblichen Patientenpopulation

Die klinischen Charakteristika der untersuchten Patienten unter Berücksichtigung des Empfängergeschlechts sind in **Tabelle 14** dargestellt. Männliche Transplantatempfänger zeigten zum Zeitpunkt der HTx seltener einen positiven CMV-Status (p=0.004) jedoch häufiger eine stenosierende TVP der epikardialen Blutgefäße (p=0.001). Keine signifikanten Unterschiede fanden sich zwischen Männern und Frauen bezüglich des Alters bei HTx, der Anzahl der Geschlechter-Missmatche, dem Überleben mit primärem Herztransplantat, der Ischämie- oder Reperfusionszeit.

# Tabelle 14:Klinische Charakteristika der untersuchten männlichen und weiblichenTransplantatempfänger

Parameter	Männlicher Empfänger	Weiblicher Empfänger	Р
	n=722	n=151	
Alter bei HTx, Jahre	49,3±0,4	48,2±0,9	0.267
Geschlechter-Missmatch, n (%)	160 (23%)	39 (27%)	0.179
Indikation zur HTx, n (%)			< 0.001
dKMP	453 (63%)	104 (69%)	
КНК	229 (32%)	23 (15%)	
Andere	40 (5%)	24 (16%)	
Überleben mit 1. Transplantat <sup>1</sup> , Jahre	11,7 (10,4–12,8)	14,7 (12,7–16,6)	0.070
Ischämiezeit, min	166±2	171±4	0.184
Reperfusionszeit, min	127±3	130±8	0.738
CMV+ bei HTx, n (%)	240 (45%)	68 (59%)	0.004
Epikardiale TVP <sup>2</sup>	112 (21%)	6 (7%)	0.001

Daten angegeben als Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes

<sup>1</sup>mediane Zeit (95% Konfidenzintervall) bis Tod oder Re-Herztransplantation; <sup>2</sup>koronarangiographische Untersuchungen erhältlich von 611 Patienten (530 Männer);CMV, Zytomegalievirus; dKMP, dilatative Kardiomyopathie; HTx, Herztransplantation; KHK, koronare Herzkrankheit; min, Minuten

Männliche Transplantatempfänger wiesen zum Zeitpunkt der HTx seltener einen positiven CMV-Status auf und nach HTx häufiger eine stenosierende epikardiale TVP als weibliche Transplantatempfänger.

# 2.4.6.2 Prävalenz mikrovaskulärer Veränderungen bei männlichen und weiblichen Transplantatempfängern

Die Prävalenz mikrovaskulärer Veränderungen bei männlichen und weiblichen Transplantatempfängern ist in der **Tabelle 15** dargestellt. Da protektive Effekte von Östrogenen bei der Entwicklung einer epikardialen TVP vermutet werden,<sup>123</sup> wurde der prä- und postmenopausale Status der weiblichen Transplantatempfänger und Spenderinnen anhand des Alters geschätzt (<50 vs.  $\geq$ 50 Jahre).

Männer (38%) waren genauso häufig von einer stenosierenden MVP betroffen wie Frauen (39%; p=0,407). Dieses traf auch für den Befund einer nicht-stenosierenden MVP (Männer 522 [72%] vs. Frauen 104 [69%]; p=0,225) und das Auftreten von Endothelveränderungen zu (Männer 474 [66%] vs. Frauen 108 [72%]; p=0,096). Diese Ergebnisse waren unabhängig von dem prä- oder postmenopausalen Status der Transplantatempfängerinnern und Spenderinnen.

Bezüglich der Zeitpunktes der Diagnosestellung zeigten sich bei Männern und Frauen keine Unterschiede in der Prävalenz einer stenosierenden oder nicht-stenosierenden MVP. Allerdings fanden sich in Biopsien, die innerhalb der ersten sechs Monate nach HTx gewonnen wurden, häufiger Endothelzellveränderungen bei Frauen (70% [60/86]) als bei Männern (56% [242/430]; p=0,012). Die weitere Analyse ergab, dass dieser Befund auf eine erhöhte Frequenz von Endothelzellveränderungen bei prä-menopausalen (78% [32/41]; p=0,011) und nicht bei postmenopausalen Frauen (62% [28/45];p=0,217) zurückzuführen war.

Unter den weiblichen Transplantatempfängern entwickelten prä-menopausale Frauen signifikant seltener eine stenosierende MVP am Ende des ersten Jahres nach HTx (10% [3/31]; vs. 30% [11/37]; p=0,039).

	n	Endothel verdickt	Ρ	Media verdickt, ohne Stenose	Ρ	Media verdickt, MVP	Р
ô Empfänger	722	474 (66%)	0.096	522 (72%)	0.225	272 (38%)	0.407
♀ Empfänger	151	108 (72%)		104 (69%)		59 (39%)	
≤6 Mo post HTx							
Empfänger     Empfänge	430	242 (56%)	0.012	294 (68%)	0.114	123 (29%)	0.418
♀ Empfänger	86	60 (70%)		65 (76%)		23 (27%)	
≤6 Mo post HTx							
Empfänger	430	242 (56%)		294 (68%)		123 (29%)	
♀ Empfänger <50J	41	32 (78%)	0.011	32 (78%)	0.272	13 (32%)	0.387
♀ Empfänger ≥50J	45	28 (62%)	0.217	33 (73%)	0.195	10 (22%)	0.230

# Tabelle 15:Prävalenz mikrovaskulärer Veränderungen bei männlichen und<br/>weiblichen Transplantatempfängern

Daten als Patientenanzahl (n, %); HTx, Herztransplantation; J, Jahre; MVP, stenosierende Mikrovaskulopathie; ↑ männlich; 
♀ weiblich

Insgesamt waren Männer und Frauen gleich häufig von einer stenosierenden bzw. nicht-stenosierenden MVP und von Endothelverdickungen betroffen. In den ersten sechs Monaten nach HTx zeigten jedoch prä-menopausale Frauen häufiger Endothelverdickungen als Männer und waren am Ende des ersten Jahres nach HTx seltener von einer stenosierenden MVP betroffen.

### 2.4.6.3 Prävalenz mikrovaskulärer Veränderungen im Hinblick auf Geschlechter-Match und Missmatch

Die Prävalenz mikrovaskulärer Veränderungen im Hinblick auf Geschlechter-Match und Missmatch ist in **Tabelle 16** dargestellt. Unter Berücksichtigung des Geschlechter-Match (Mann-auf-Mann 358 [65%]; Frau-auf-Frau 80 [73%]) und Missmatch (Frau-auf-Mann 117 [68%]; Mann-auf-Frau 30 [72%]; p=0,441) waren Endothelzellveränderungen bei Männern und Frauen gleich häufig. Gleiche Ergebnisse zeigten sich für die Frequenz einer nicht-stenosierenden MVP, die gleichermaßen häufig bei geschlechtsidentisch transplantierten männlichen (402 [73%]) und weiblichen Empfängern (70 [64%]) und auch getrenntgeschlechtlich transplantierten männlichen (119 [69%]) und weiblichen Empfängern (34 [82%]; p=0,115) auftrat. Ebenso fanden sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Prävalenz der stenosierenden MVP, die bei geschlechtsidentischer Transplantation 38% (209/550) der Männer und 38% (41/109) der Frauen betraf sowie bei getrenntgeschlechtlicher Transplantation 36% (62/172) der männlichen und 46% (19/42) der weiblichen Empfänger (p=0,685). Diese Ergebnisse waren unabhängig von dem Zeitpunkt der Biopsieentnahme im ersten Jahr nach HTx.

Im Gegensatz dazu waren jedoch männliche Transplantatempfänger seltener von einer nichtstenosierenden (Missmatch 56% [34/60] vs. kein Missmatch 73% [402/550]; p=0,012) oder stenosierenden MVP (Missmatch 25% [15/60] vs. kein Missmatch 39% [215/550]; p=0,047) betroffen, wenn sie das Herz einer post-menopausalen Spenderin erhielten.

	n	Endothel	Р	Media verdickt,	Р	Media verdickt,	Р
		verdickt		ohne Stenose		MVP	
	550	358 (65%)	0.441	402 (73%)	0.115	209 (38%)	0.685
♀−♀ HTx	109	80 (73%)		70 (64%)		41 (38%)	
♀−☆ HTx	172	117 (68%)		119 (69%)		62 (36%)	
transformed to the second sec	42	30 (72%)		34 (82%)		19 (46%)	
	550	358 (65%)		402 (73%)		209 (38%)	
♀ <50J− ☆ HTx	112	81 (72%)	0.084	84 (75%)	0.383	45 (40%)	0.379
♀ >50J− ☆ HTx	60	34 (56%)	0.144	34 (56%)	0.012	15 (25%)	0.047

# Tabelle 16:Prävalenz mikrovaskulärer Veränderungen im Hinblick auf<br/>Geschlechter-Match und Missmatch

Daten als Patientenanzahl (n, %); HTx, Herztransplantation; J, Jahre; MVP, stenosierende Mikrovaskulopathie; \$-\$ Mann-auf-Mann; \$-\$ Mann-auf-Frau; \$-\$ Frau-auf-Frau; \$-\$ Frau-auf-Mann

Die stenosierende und nicht-stenosierende MVP und auch Endothelveränderungen zeigten keine Prävalenzunterschiede im Hinblick auf Geschlechter-Match oder Missmatch. Männliche Transplantatempfänger waren jedoch seltener von einer nicht-stenosierenden oder stenosierenden MVP betroffen, wenn sie das Herz einer post-menopausalen Spenderin erhielten.

### 2.4.6.4 Fatale kardiale Ereignisse bei Männern und Frauen mit stenosierender Mikrovaskulopathie

Dreißig Prozent (49/166) der männlichen Transplantatempfänger mit stenosierender MVP erlitten ein fatales kardiales Ereignis im Vergleich zu 13% (37/289) der Männer ohne stenosierende MVP (p<0,001). Dagegen zeigten nur 17% (6/36) der Frauen mit Nachweis einer stenosierenden MVP ein fatales kardiales Ereignis, verglichen mit 3% der Frauen ohne stenosierende MVP (p=0,048).

Insgesamt betrug bei Männern mit stenosierender MVP das 1-, 5-, 10- and 15-Jahres ereignisfreie Überleben 96%, 85%, 74% und 63%, verglichen mit 98%, 96%, 87% und 78% bei Männern ohne stenosierende MVP (p=0,0008). Auch Frauen zeigten bei Bestehen einer stenosierenden MVP ein geringeres ereignisfreies Überleben nach 1, 5, 10 und 15 Jahren (94% vs. 86% vs. 82% vs. 81%) verglichen mit Frauen ohne stenosierende MVP (97% vs. 97% vs. 97% vs. 91%, p=0,0389). Während der ersten fünf Jahre nach HTx zeigten Männer und Frauen eine nahezu gleiche Rate an fatalen kardialen Ereignissen, danach wiesen jedoch Männer eine signifikant höhere Wahrscheinlichkeit auf, ein fatales kardiales Ereignis zu erleiden als Frauen (**Abbildung 8**, p=0.0001).



# Abbildung 8:Kaplan Meier Schätzung für das Auftreten fataler kardialer Ereignisse<sup>1</sup>bei Männern und Frauen mit und ohne stenosierende

#### Mikrovaskulopathie

<sup>1</sup>tödlicher akuter Myokardinfarkt, tödliches Transplantatversagen, plötzlicher Herztod, Re-Herztransplantation; MVP+, Patienten mit stenosierender Mikrovaskulopathie (MVP); MVP-, Patienten ohne stenosierende Mikrovaskulopathie; <sup>2</sup> weiblicher Empfänger; <sup>3</sup> männlicher Empfänger; X-Achse in Jahren (J) nach Herztransplantation

Im Langzeitverlauf nach HTx zeigten Männer eine höhere Wahrscheinlichkeit ein fatales kardiales Ereignis zu erleiden als Frauen, unabhängig vom Bestehen einer stenosierenden MVP.

Auch unter Berücksichtigung des Geschlechter-Match und Missmatch erlitten Männer häufiger schwere kardiale Ereignisse als Frauen, allerdings hatte der Faktor der getrenntgeschlechtlichen Transplantation weder in der Gruppe der Männer noch der Frauen einen signifikanten Einfluss auf das Überleben (**Abbildung 9**).



# Abbildung 9:Kaplan Meier Schätzung für das Auftreten fataler kardialer Ereignisse1bei Bestehen einer stenosierenden Mikrovaskulopathie unterBerücksichtigung des Geschlechter-Match und Missmatch

<sup>1</sup>tödlicher akuter Myokardinfarkt, tödliches Transplantatversagen, plötzlicher Herztod, Re-Herztransplantation); ☆ – ☆ Mann-auf-Mann; ☆ – ♀ Mann-auf-Frau; ♀ – ♀ Frau-auf-Frau; ♀ – ☆ Frau-auf-Mann; X-Achse in Jahren (J) nach Herztransplantation

Unabhängig vom Geschlechter-Match und Missmatch erlitten Männer häufiger fatale kardiale Ereignisse als Frauen.

In der vorangegangenen Analyse zeigte die stenosierende epikardiale TVP unabhängig vom Empfängergeschlecht prognostische Bedeutung für das Überleben nach HTx. Um die Bedeutung des Empfängergeschlechts für den klinischen Verlauf der stenosierenden MVP zu prüfen wurde dieser Parameter für die weitere Überlebensanalyse nicht berücksichtigt, da nur 6/151 weiblichen Patienten von einer stenosierenden epikardialen TVP betroffen waren (**Tabelle 14**). Unter Ausschluss der stenosierenden epikardialen TVP im multivariaten Regressionsmodell wurden die stenosierende MVP (Risk Ratio [95% Konfidenzintervall] 2,22 [1,45–3,40]; p<0,001), ein Diabetes mellitus nach HTx (1,62 [1,06–2,47]; p=0.026) und das männliche Empfängergeschlecht (2,69 [1,24–5,84]; p=0,012) als signifikante Risikofaktoren für das Auftreten fataler kardialer Ereignisses charakterisiert (**Tabelle 17**).

# Tabelle 17:Multivariates Cox-Hazard Modell für das Auftreten fataler kardialerEreignisse<sup>1</sup> unter Berücksichtigung des Spendergeschlechts

Parameter	Multivariate RR (95% CI)	Ρ
Stenosierende MVP	2,22 (1,45–3,40)	<0,001
Diabetes mellitus nach HTx	1,62 (1,06–2,47)	0,026
Empfängergeschlecht	2,69 (1,24–5,84)	0,012

<sup>1</sup>tödlicher akuter Myokardinfarkt, tödliches Transplantatversagen, plötzlicher Herztod, Re-Herztransplantation); CI, Konfidenzintervall; HTx, Herztransplantation; MVP, Mikrovaskulopathie; RR, Risk Ratio

Unter Ausschluss der stenosierenden epikardialen TVP, die lediglich 6/151 Patientinnen betraf, waren die stenosierende MVP, ein Diabetes mellitus post HTx sowie das männliche Empfängergeschlecht signifikante Risikofaktoren für das Auftreten fataler kardialer Ereignisse.

## 2.5 Risikofaktoren für die Entwicklung einer Mikrovaskulopathie nach Herztransplantation

# 2.5.1 Klinische Charakteristika der Patienten mit und ohne stenosierende Mikrovaskulopathie

Die klinischen Charakteristika der Patienten mit und ohne stenosierender MVP sind in der **Tabelle 18** aufgeführt. Patienten mit stenosierender MVP wurden häufiger aufgrund einer koronaren Herzkrankheit (32% vs. 27%, p=0,006) und vornehmlich in den '80ger (32% vs. 9%) und frühen '90ger Jahren (46% vs. 44%, p<0.001) transplantiert. Diese Patienten waren seltener CMV-positiv bei HTx (39% vs. 52%, p=0,001) und an einem Assist-Device vor HTx (8% vs. 13%, p=0,010). Patienten mit stenosierender MVP wiesen kürzere Reperfusionszeiten (114±5 vs. 135±4 min, p=0,001) auf und hatten jüngere Spender (34,0±0,7 vs. 36,3±0,6 Jahre, p=0,018).

Bezüglich der klinischen Merkmale nach HTx zeigte sich, dass Patienten mit stenosierender MVP seltener eine lipidsenkende Therapie (54% vs. 74%, p<0,001) und mindestens eine virostatische Therapie aufgrund einer CMV-Infektion erhielten (14% vs. 25%, p<0.001), eine Niereninsuffizienz im Stadium der kompensierten Retention hatten (85% vs. 91%, p=0,008) oder bei terminalem Nierenversagen dialysepflichtig waren (10% vs. 14%, p=0,034). Allerdings stand die Mehrzahl der Patienten mit Niereninsuffizienz bzw. Dialyse auch unter einer lipidsenkenden Therapie (p<0,0001).

Patienten mit stenosierender MVP bildeten signifikant häufiger ein Quilty-Phänomen aus (72% vs. 45%, p<0,001), hatten signifikant häufiger den Nachweis von Endothelveränderungen in mindestens einer Biopsieprobe des ersten Jahres nach HTx (89% vs. 53%, p<0,001) und wiesen eine höhere Prävalenz akuter zellulärer Rejektionen der ISHLT-Grade 1A–2 (6,4±0,3 vs. 2,2±0,1, p<0,001) und der ISHLT-Grade 3A–4 auf (1,4±0,1 vs. 0,5±0,1, p<0,001).

Kein signifikanten Unterschiede fanden sich zwischen Patienten mit und ohne stenosierender MVP bezüglich der Prävalenz und Verteilung der stenosierenden epikardialen TVP, dem Empfängeralter bei HTx, dem Empfängergeschlecht und Geschlechter-Missmatch, dem CMV-Status des Spenders, und einem behandelten Diabetes mellitus oder arteriellen Hypertonus.

Parameter	MVP+	MVP-	Р
	n=331	n=542	
Empfängeralter bei HTx, Jahre	48,6±0,6	49,4±0,5	ns
Indikation zur HTx KHK, n (%)	106 (32%)	146 (27%)	0,006
Empfänger weiblich, n (%)	59 (18%)	92 (17%)	ns
Geschlechter-Missmatch, n (%)	75 (23%)	124 (24%)	ns
Empfänger CMV+ bei HTx, n (%)	91 (39%)	217 (52%)	0,001
Assist-Device vor HTx, n (%)	25 (8%)	69 (13%)	0,010
Transplantationsära, n (%)			<0,001
1986–1988	105 (32%)	48 (9%)	
1989–1993	151 (46%)	237 (44%)	
1994–1998	53 (16%)	181 (33%)	
1999–2002	22 (6%)	76 (14%)	
Ischämiezeit, min	163±2	169±2	ns
Reperfusionszeit, min	114±5	135±4	0,001
Spender, weiblich, n (%)	97 (30%)	169 (32%)	ns
Spender CMV+, n (%)	134 (55%)	250 (57%)	ns
Spenderalter, Jahre	34,0±0,7	36,3±0,6	0,018
Diabetes mellitus nach HTx, n (%)	82 (25%)	150 (28%)	ns
Art. Hypertonus nach HTx, n (%)	295 (89%)	491 (91%)	ns
Hyperlipoproteinämie nach HTx, n (%)	174 (54%)	396 (74%)	<0,001
Niereninsuffizienz nach HTx <sup>1</sup> , n (%)	280 (85%)	489 (91%)	0,008
Hämodialyse nach HTx, n (%)	32 (10%)	76 (14%)	0,034
CMV-Infektion nach HTx, n (%)	46 (14%)	133 (25%)	<0,001
Epikardiale TVP, n (%)	49 (19%)	69 (20%)	ns
1-Gefäßbefall, n (%)	17 (7%)	33 (9%)	ns
2-Gefäßbefall, n (%)	14 (5%)	17 (5%)	ns
3-Gefäßbefall, n (%)	18 (7%)	19 (5%)	ns
RIVA betroffen, n (%)	37 (14%)	42 (12%)	ns
RCX betroffen, n (%)	28 (11%)	40 (11%)	ns
RCA betroffen, n (%)	34 (13%)	42 (12%)	ns
Endothelverdickung+, n (%)	294 (89%)	288 (53%)	<0,001
Quilty+, n (%)	238 (72%)	243 (45%)	<0,001
1-Jahres ISHLT Grade 1A-2	6,4±0,3	2,2±0,1	<0,001
1-Jahres ISHLT Grade 3A-4	1,4±0,1	0,5±0,1	<0,001

# Tabelle 18:Klinische Charakteristika der Patienten mit und ohne stenosierenderMikrovaskulopathie im 1. Jahr nach Herztransplantation

<sup>1</sup>Kreatinin im Serum >1,6 mg/dl; CI, Konfidenzintervall; CMV, Zytomegalievirus; HTx, Herztransplantation; ISHLT, International Society for Heart and Lung Transplantation; KHK, koronare Herzerkrankung; MVP, stenosierende Mikrovaskulopathie; n, Anzahl; RCA, A. coronaria dextra; RCX, R. circumflexus; RIVA, R. interventricularis anterior; TVP, Transplantatvaskulopathie

Patienten mit stenosierender MVP wurden häufiger in den '80–'90ger Jahren und bei koronarer Herzkrankheit transplantiert, waren seltener CMV-positiv bzw. am Assist-Device vor HTx, hatten kürzere Reperfusionszeiten, jüngere Spender, seltener eine lipidsenkende Therapie, häufiger eine CMV-Therapie, eine Niereninsuffizienz oder Dialysepflichtigkeit, einen Quilty, Endothelveränderungen und akute zelluläre Rejektionen. Wie in Kapitel 2.4.4 beschrieben zeigte die stenosierende MVP nicht nur bei Nachweis in mindestens einer Biopsieprobe des 1-Jahres-Biopsievolumens eine Assoziation mit dem Auftreten schwerer kardialer Ereignisse, sondern auch bei Nachweis innerhalb der ersten drei Monate und am Ende des ersten Jahres nach HTx. Deshalb wurde in einem zweiten Schritt die Patientenpopulation hinsichtlich des Zeitpunktes der Diagnosestellung unterteilt und deren klinischen Charakteristika erneut überprüft (Tabelle 19). Patienten mit stenosierender MVP, die >30-90 Tage nach HTx diagnostiziert wurde, wurden häufiger aufgrund einer koronaren Herzkrankheit transplantiert (35% vs. 27%, p=0,038), hatten jüngere Spender (34,0±0,7 vs. 36,3±0.6, p=0,018) und waren seltener vor HTx am Assist-Device (8% vs. 13%; p=0,010). Diese Patienten zeigten kürzere Ischämie- (163±2 vs. 169±2; p=0,043) und Reperfusionszeiten (114±5 vs. 135±4; p=0,001) und wiesen eine höhere Anzahl (6,0±0,3 vs. 2,2±0,1, p<0,001) sowie einen höheren Schweregrad akuter zellulärer Rejektionsepisoden auf (1,4±0,1 vs. 0,5±0,1, p<0,001). Patienten mit einer stenosierenden MVP Biopsieprobe zeigten auch häufiger mindestens eine mit dem Nachweis von Endothelzellveränderungen (90% vs., 70%; p<0,001) oder dem Quilty (75% vs. 57%; p<0,001). Eine stenosierende MVP fand sich seltener bei Patienten mit einer behandelten Hyperlipoproteinämie (54% vs. 74%; p<0,001), mit einer Niereninsuffizienz im Stadium der kompensierten Retention (85% vs. 91%,p=0,008) und bei dialysepflichtigen Patienten (10% vs. 14%, p=0,034). Ein positiver CMV-Status fand sich seltener bei Patienten mit einer stenosierenden MVP (39% vs. 52%, p=0,001) und diese Patienten wurden signifikant häufiger in der frühen HTx-Ära transplantiert (p<0,001).

Der Befund einer stenosierenden MVP in Biopsien, die >270–365 Tage nach HTx gewonnen wurden, war häufiger mit einer stenosierenden Erkrankung des R. interventricularis anterior verbunden (23% vs. 10%; p=0,011) und auch hier zeigte sich ein Ära-Effekt (p=0,003).

	>30–90 Tage	nach HTx		>270–365 T	age nach HTx	
	MVP+	MVP-	Р	MVP+	MVP-	Р
	n=201	n=519		n=67	n=287	
Empfängeralter bei HTx, Jahre	48,0±0,7	49,1±0,5	0,184	47,6±1,3	48,7±0,6	0,428
Indikation zur HTx KHK, n (%)	71 (35%)	142 (27%)	0,038	23 (34%)	89 (31%)	0,400
Empfänger weiblich, n (%)	38 (19%)	83 (16%)	0,203	11 (16%)	50 (17%)	0,503
Geschlechter-Missmatch, n (%)	45 (23%)	116 (23%)	0,509	16 (25%)	63 (23%)	0,446
Empfänger CMV+, n (%)	78 (39%)	270 (52%)	0,001	15 (33%)	76 (40%)	0,258
Assist-Device vor HTx, n (%)	16 (8%)	67 (13%)	0,010	4 (6%)	26 (9%)	0,291
Transplantationsära, n (%)			<0,001			0,003
1986–1988, n (%)	57 (29%)	85 (17%)		37 (55%)	90 (32%)	
1989–1993, n (%)	99 (49%)	261 (50%)		19 (28%)	139 (48%)	
1994–1998, n (%)	31 (15%)	137 (26%)		10 (15%)	51 (18%)	
1999–2002, n (%)	14 (7%)	36 (7%)		1 (2%)	7 (2%)	
Ischämiezeit, min	157±3	166±2	0,014	166±6	162±3	0,457
Reperfusionszeit, min	107±6	126±4	0,007	98±11	101±4	0,759
Spender weiblich, n (%)	59 (30%)	156 (31%)	0,498	18 (28%)	82 (30%)	0,425
Spender CMV+, n (%)	93 (63%)	55 (37%)	0,060	24 (51%)	104 (53%)	0,479
Spenderalter	34,0±0,7	36,3±0,6	0,018	33,6±1,5	33,3±0,7	0,873
Diabetes mellitus, n (%)	45 (23%)	146 (28%)	0,068	17 (26%)	76 (27%)	0,508
Arterieller Hypertonus, n (%)	179 (89%)	466 (90%)	0,379	60 (91%)	264 (92%)	0,432
Hyperlipoproteinämie, n (%)	110 (55%)	341 (67%)	0,003	32 (50%)	159 (57%)	0,207
Niereninsuffizienz <sup>1</sup> , n (%)	170 (85%)	472 (91%)	0,008	56 (85%)	258 (90%)	0,148
Hämodialyse, n (%)	17 (9%)	73 (14%)	0,025	5 (8%)	39 (14%)	0,125
Epikardiale TVP, n (%)	30 (20%)	74 (21%)	0,468	15 (25%)	46 (19%)	0,220
2-Gefäßbefall, n (%)	9 (6%)	18 (5%)	0,765	4 (7%)	11 (5%)	0,075
3-Gefäßbefall, n (%)	11 (8%)	23 (7%)		7 (12%)	9 (4%)	
RCX betroffen, n (%)	17 (11%)	44 (13%)	0,434	8 (13%)	22 (9%)	0,242
RCA betroffen, n (%)	22 (15%)	46 (13%)	0,349	11 (18%)	28 (12%)	0,135
RIVA betroffen, n (%)	22 (15%)	48 (14%)	0,414	14 (23%)	25 (10%)	0,011
Endothelverdickung+, n (%)	180 (90%)	364 (70%)	<0,001	60 (90%)	236 (82%)	0.098
Quilty+, n (%)	150 (75%)	293 (57%)	<0,001	48 (72%)	205 (71%)	0.551
1-Jahres ISHLT Grade 1A-2	6,0±0,4	4,0±0,2	<0,001	7,7±0,8	6,5±0,3	0.098
1-Jahres ISHLT Grade 3A–4	1,5±0,2	0,8±0,1	<0,001	1,3±0,1	1,3±0,2	0.762

# Tabelle 19:Klinische Charakteristika der Patienten mit und ohne stenosierendeMikrovaskulopathie >30–90 und >270–365 Tagen nach HTx

<sup>1</sup>Kreatinin im Serum >1,6 mg/dl; CI, Konfidenzintervall; CMV, Zytomegalievirus; HTx, Herztransplantation; ISHLT, International Society for Heart and Lung Transplantation; KHK, koronare Herzerkrankung; MVP, stenosierende Mikrovaskulopathie; n, Anzahl; RCA, A. coronaria dextra; RCX, R. circumflexus; RIVA, R. interventricularis anterior; TVP, Transplantatvaskulopathie

Die MVP >30–90 Tage trat häufiger auf bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit, ohne Assist und negativem CMV-Status prä-HTx, in der frühen HTx-Ära, bei jüngeren Spendern, kürzeren Ischämie-/Reperfusionszeiten, zellulären Rejektionen, Endothelzellveränderungen, Quilty, Patienten ohne lipidsenkende Therapie, ohne Niereninsuffizienz oder Dialyse. Die MVP >270–365 Tage nach HTx trat häufiger auf bei stenosierender TVP des RIVA und in der frühen HTx-Ära.

### 2.5.2 Risikofaktoren für die Entwicklung einer stenosierenden Mikrovaskulopathie

Die logistische Regressionsanalyse für die Entwicklung einer stenosierenden MVP findet sich in **Tabelle 20**. Im univariaten Ansatz fanden sich als signifikante Risikofaktoren die koronare Herzkrankheit als Indikation zur HTx, der HTx-Zeitraum 1984–1993, der Nachweis von Endothelzellveränderungen >30–90 Tage nach HTx und mindestens ein Quilty im Gesamtbiopsievolumen sowie die Anzahl und der Schweregrad akuter zellulärer Rejektionen. Invers korreliert mit dem Auftreten einer stenosierenden MVP war ein positiver CMV-Status des Empfängers bei HTx, Assist-Device vor HTx, die Ischämie- und Reperfusionszeit, das Spenderalter, eine behandelte Hyperlipoproteinämie nach HTx, eine Niereninsuffizienz im Stadium der kompensierten Retention und mindestes eine virostatisch therapierte CMV-Infektion nach HTx.

In der multivariaten Regressionsanalyse waren nur die HTx-Ära 1986–19988 (Odds Ratio [OR] 1,74, 95% Konfidenzintervall [CI] 1,21–2,94), der Nachweis von Endothelzellveränderungen >30–90 Tage nach HTx (OR 2,78, 95% CI 2,01–3,84) und mindestens ein Quilty im Gesamtbiopsievolumen (OR 1,83, 95% CI 1,32–2,55) signifikante Risikofaktoren, während sich eine negative Korrelation mit einer lipidsenkenden Therapie (OR 0,56, 95% CI 0,40–0,80) fand.

Parameter	Univariate OR (95% CI)	Multivariate OR (95% CI)
Empfängeralter bei HTx	-	-
Indikation zur HTx (KHK vs. dKMP)	1,27 (1,09–1,72)	-
Empfänger weiblich	-	-
Empfänger CMV+ bei HTx	0,59 (0,422–0,81)	-
Assist-Device vor HTx	0,56 (0.35–0.90)	-
Transplantationsära		
1986–1988	7,50 (4,14–13,59)	1,74 (1,21–2,94)
1989–1993	2,17 (1,29–3,70)	-
1994–1998	-	-
1999–2002	-	-
Ischämiezeit	0,99 (0.99–1.00)	-
Reperfusionszeit	0,99 (0.99–0.99)	-
Spender weiblich	-	-
Spender CMV+	-	-
Spenderalter	0,99 (0,98–0.99)	-
Diabetes mellitus nach HTx	-	-
Arterieller Hypertonus nach HTx	-	-
Hyperlipoproteinämie nach HTx	0,41 (0,31–0,55)	0,56 (0,40–0,80)
Niereninsuffizienz nach HTx <sup>1</sup>	0,58 (0,39–0,89)	-
Hämodialyse nach HTx	-	-
CMV-Infektion nach HTx	0.49 (0.34–0.71)	-
Epikardiale TVP	-	-
1-Gefäßbefall	-	-
2-Gefäßbefall	-	-
3-Gefäßbefall	-	-
RIVA betroffen	-	-
RCX betroffen	-	-
RCA betroffen	-	-
Endothelveränderung >30–90 Tage	4,01 (2,98–5,39)	2,78 (2,01–3,84)
Quilty+	3,15 (2,35–4,22)	1,83 (1,32–2,55)
1-Jahres ISHLT Grade 1A–2	1,25 (1,20–1,29)	-
1-Jahres ISHLT Grade 3A-2	1,46 (1,32–1,61)	-

# Tabelle 20:Logistische Regressionsanalyse für das Auftreten einer stenosierendenMikrovaskulopathie

<sup>1</sup>Kreatinin im Serum >1,6 mg/dl; CI, Konfidenzintervall; CMV, Zytomegalievirus; HTx, Herztransplantation; KHK, koronare Herzerkrankung; MVP, Mikrovaskulopathie; OR, Odds Ratio; RCA, A. coronaria dextra; RCX, R. circumflexus; RIVA, R. interventricularis anterior; TVP, Transplantatvaskulopathie

In der multivariaten Regressionsanalyse waren die HTx-Ära 1986–19988, der Nachweis von endothelialen Veränderungen >30–90 Tage nach HTx und der Quilty signifikante Risikofaktoren für die stenosierende MVP. Eine negative Korrelation zeigte sich zur lipidsenkenden Therapie

#### 2.6 Diskussion der retrospektiven Untersuchungen

### 2.6.1 Einfluss der Mikrovaskulopathie auf das Langzeitüberleben nach Herztransplantation

In der vorgelegten retrospektiven Studie wurde in einer repräsentativen Kohorte von 873 HTx-Patienten die Prävalenz und prognostische Bedeutung der stenosierenden MVP in rechtsventrikulären Biopsienproben des ersten Jahres nach HTx analysiert. Es wurde herausgearbeitet, dass die stenosierende MVP eine Erkrankung der Media ist und bei mehr als 40% der herztransplantierten Patienten bereits früh nach HTx nachgewiesen werden kann. Sie hat prognostische Bedeutung für das Auftreten fataler kardialer Ereignisse, unabhängig von dem Bestehen einer stenosierenden epikardialen TVP, und dieser Effekt ist am stärksten ausgeprägt, wenn sie am Ende des ersten Jahres nach HTx diagnostiziert wird.

Als Bewertungskriterien für die morphologischen Veränderungen der terminalen Strombahn wurden die Intima und Media ausgewählt, da sowohl den Endothelzellen als auch den glatten Muskelzellen eine zentrale Rolle bei der Entwicklung einer TVP zugeschrieben wird.<sup>4, 57, 143</sup> Die stenosierende MVP stellte sich in der vorliegenden Untersuchung und wie bereits zuvor beschrieben<sup>5, 7, 8, 199</sup> als eine Erkrankung der Media dar, allerdings ohne relevante Intimaverdickung wie bei der TVP der epikardialen Koronararterien (**s. Tabelle 1**). Folglich manifestiert sich die Vaskulopathie nach HTx in der terminalen Strombahn als Erkrankung der Media und im epikardialen Strombett als Erkrankung der Intima.

Es fanden sich aber auch "intermediäre", nicht-stenosierende Veränderungen in der terminalen Strombahn, die nicht mit dem Auftreten fataler kardialer Ereignisse assoziiert waren. Gemäß Armstrong und Kollegen<sup>5</sup> sowie eigener Beobachtungen<sup>8</sup> könnten diese Veränderungen ein mikrovaskuläres Remodelling nach HTx repräsentieren, dass durch eine Zunahme Alpha-Aktin-positiver Zellen in den Blutgefäßen charakterisiert ist. Daher sollten mikrovaskuläre Veränderungen nach HTx nicht primär als Krankheit eingestuft werden,<sup>114</sup> sondern eher als transplantationsbedingter "physiologischer" Prozess. Allerdings sind hier weitere Untersuchungen erforderlich, um die Bedeutung dieses "mikrovaskulären Remodellings" für die weitere Entwicklung einer stenosierenden MVP zu definieren.

Die Schwellung von Endothelzellen in der terminalen Strombahn ist im Zusammenhang mit der sog. humoralen oder antikörper-vermittelten Rejektion beschrieben.<sup>200</sup> In der vorliegenden Untersuchung wurde auf den Nachweis von Immunglobulinen in der terminalen Strombahn verzichtet, da das primäre Ziel dieser Arbeit war, morphologische Kriterien für mikrovaskuläre Veränderungen in routinemäßig aufbereiteten rechtsventrikulären Biopsieproben zu etablieren und deren Bedeutung für das Überleben nach HTx zu prüfen. Gemäß des hier vorgestellten Graduierungssystems zeigte sich, dass der bioptische Nachweis einer stenosierenden MVP bereits innerhalb der ersten drei Monate nach HTx bedeutsam für die Langzeitprognose der betroffenen Patienten ist. Dabei nahm die prognostische Relevanz der stenosierenden MVP am Ende des ersten Jahres zu, wobei anscheinend ein "prognostisches" Fenster zwischen dem 4. und 9. Monat nach HTx besteht. Dieser Befund könnte auf verschiedene pathophysiologische Mechanismen zurückzuführen sein, die für die Entwicklung schwerer kardialer Ereignisse im weiteren Verlauf entscheidend sind. In diesem Zusammenhang konnte anhand eigener Untersuchungen gezeigt werden, dass es bei der Entwicklung stenosierender mikrovaskulärer Veränderungen zu einer Proliferation von glatten Muskelzellen kommt, die ausschließlich auf die ersten drei Monate nach HTx begrenzt ist. Daher spielen wahrscheinlich am Ende des ersten Jahres nach HTx andere Mechanismen – jenseits der mikrovaskulären Stenose selbst – eine Rolle, wie z. B. eine pro-thrombotische endoluminale Oberfläche der betroffenen Blutgefäße.<sup>167</sup> Die prognostische Bedeutung mikrovaskulärer Veränderungen in rechtsventrikulären Biopsieproben wurde bereits vermutet,<sup>82, 117</sup> jedoch in der vorliegenden Arbeit erstmalig anhand eines großen Patientenkollektivs im longitudinalen Studiendesign und unter Berücksichtigung ihres klinischen Verlaufs untersucht. Basierend auf den präsentierten Ergebnissen erhalten serielle bioptische Untersuchungen innerhalb der ersten und letzten drei Monate des ersten Jahres nach HTx zur diagnostischen Sicherung der MVP neue prognostische Relevanz. Dieses serielle bioptische Screening sollte daher standardisiert und zusätzlich zum nicht-invasiven Abstoßungsmonitoring<sup>131, 181, 201</sup> durchgeführt werden.

### 2.6.2 Die Bedeutung des Quilty für den klinischen Verlauf der stenosierenden Mikrovaskulopathie

In der weiteren Analyse wurde die Bedeutung des Quilty-Phänomens für den klinischen Verlauf der stenosierenden MVP evaluiert. Es zeigte sich, dass über die Hälfte der untersuchten Patienten im ersten Jahr nach HTx mindestens einen Quilty bildeten. Das Auftreten eines Quilty war mit einer verminderten Überlebenswahrscheinlichkeit verbunden und verstärkte den Effekt einer stenosierenden MVP im Hinblick auf das Auftreten fataler kardialer Ereignisse im Langzeitverlauf nach HTx.

Im Gegensatz zu anderen Untersuchungen<sup>113, 128</sup> war der Nachweis des Quilty mit einem geringeren Gesamtüberleben und einer höheren Frequenz fataler kardialer Ereignisse assoziiert. Diese divergenten Ergebnisse basieren wahrscheinlich auf der Methodik der Datenanalysen, da Chu und Kollegen<sup>128</sup> das aktuarische Überleben als Querschnitt zu bestimmten Zeitpunkten nach HTx bestimmten, während in der vorliegenden Untersuchung die Kaplan Meier Methode angewendet wurde, mit der die Überlebensrate bei jeder Zensur eines Patienten neu berechnet wird. Zwar analysierten auch Joshi und Mitarbeiter<sup>113</sup> den Quilty im ersten Jahr nach HTx und seinen klinischen Effekt auf das Überleben, allerdings wurden in diese Studie nur Patienten eingeschlossen, die mindestens ein Jahr nach HTx überlebt hatten. Gemäß dieser Daten<sup>113</sup> hatte der Quilty keine prognostische Bedeutung für das Überleben. Da jedoch im Vergleich zum mittel- und langfristigen Verlauf gerade das erste Jahr nach HTx durch hohe Mortalitätsraten gekennzeichnet ist, sollten Überlebensanalysen bei herztransplantierten Patienten gerade diesen kritischen Zeitabschnitt mit beinhalten. Durch fokussierte Todesursachenanalyse konnte gezeigt werden, dass der deletäre Effekt des Quilty in Analogie zu dem der stenosierenden MVP auf einer höheren Rate fataler kardialer Ereignisse beruht. Dadurch wurden zwei potentiell letale Faktoren identifiziert, die bereits früh nach HTx anhand routinemäßig aufbereiteter Biopsieproben diagnostiziert werden können und das Langzeitüberleben von HTx-Patienten bedrohen.

### 2.6.3 Die Mikrovaskulopathie beeinträchtigt nicht die günstigere Prognose von Frauen nach Herztransplantation

In der vorliegenden Arbeit wurde auch die Prävalenz und der klinische Verlauf der stenosierenden MVP unter Berücksichtigung des Empfänger- und Spendergeschlechts analysiert. Die stenosierende MVP betraf gleich häufig männliche und weibliche Transplantatempfänger. Nur im Langzeitverlauf und nicht innerhalb der ersten fünf Jahre nach HTx zeigten Männer eine höhere Rate fataler kardialer Ereignisse und hatten ein erhöhtes Risiko aufgrund einer stenosierenden MVP zu versterben, unabhängig von dem Bestehen einer stenosierenden epikardialen TVP.

Das männliche Geschlecht ist ein akzeptierter Risikofaktor für die Entwicklung einer koronaren Herzkrankheit in nicht-transplantierten Herzen.<sup>165</sup> Diese Erkenntnis wird auf die vaskuloprotektiven Effekte von Östrogenen bei Frauen zurückgeführt, die u. a. eine Senkung des Low-Density-Lipoprotein-Cholesterinspiegels vermitteln und den Prozess des vaskulären Remodellings beeinflussen.<sup>202</sup> Daher ist es überraschend, dass für weibliche Empfänger und Organe von weiblichen Spendern nach HTx ein höheres Risiko für die Entwicklung einer epikardialen TVP beschrieben wurde.<sup>44, 69, 163</sup> Dieser beobachtete Effekt könnte auf die potentielle Rolle von Östrogenrezeptoren bei bestimmten Funktionen des Immunsystems zurückzuführen sein,<sup>203</sup> da die Entwicklung einer TVP nach HTx als immunsystemvermittelter Prozess betrachtet wird.<sup>4, 57</sup> Bezüglich der stenosierenden MVP konnten jedoch keine geschlechtsbedingten Prävalenzunterschiede festgestellt werden. Da sich die Vaskulopathie nach HTx im epikardialen Strombett als Erkrankung der Intima<sup>109</sup> und in der terminalen Strombahn als Erkrankung der Media<sup>7, 8</sup> manifestiert, könnte der vorliegende Befund durch verschiedene ätiopathogenetische Faktoren bedingt sein, die eine epikardiale oder mikrovaskuläre Manifestation triggern. Da in der vorliegenden Arbeit die Anzahl betroffener Blutgefäße je Flächeneinheit nicht bestimmt wurde, können quantitative Unterschiede bezüglich veränderter Blutgefäße zwischen männlichen und weiblichen Transplantatempfängern nicht ausgeschlossen werden. Dieses Vorgehen lag darin begründet, einen Graduierungsstandard für mikrovaskuläre Veränderungen in der klinischen Routine zu entwickeln, der schnell anzuwenden ist und keiner zusätzlichen apparativen Ausstattung bedarf. Allerdings könnte die quantitative morphologische Analyse zur Klärung der vorhergenannten Problematik beitragen und sollte in weiterführenden Studien Anwendung finden.

In der Literatur sind protektive Effekte von Östrogenen bei der Entwicklung einer epikardialen TVP beschrieben,<sup>123</sup> und stehen möglicherweise in Zusammenhang mit deren Eigenschaft, die Empfindlichkeit von Gewebe für ischämische Ereignisse durch die Induktion von Kollateralgefäßen zu modulieren.<sup>202</sup> Auch bei der stenosierenden MVP scheinen Östrogene eine Rolle zu spielen, denn diese trat am Ende des ersten Jahres nach HTx seltener bei prä-menopausalen Frauen auf. Der Gedanke östrogen-vermittelter "protektiver Mechanismen" könnte auch die hohe Prävalenz endothelialer Veränderungen bei prä-menopausalen Frauen jedoch ohne konsekutive Entwicklung einer stenosierenden MVP erklären, obwohl Endothelzellen das Schlüsselelement in der Entwicklung einer TVP nach HTx darstellen.<sup>4, 57, 143</sup>

56

Auf den ersten Blick konkurrierend zu diesem Konzept erscheint der Befund, dass sowohl die nichtstenosierende als auch stenosierende MVP seltener bei Männern auftrat, die das Organ einer postmenopausalen Spenderin erhielten. Dieser Effekt ist möglicherweise mit der Expression von Östrogenrezeptorsubtypen im transplantierten Myokard verbunden. Obwohl der Östrogen-Rezeptor Beta als Vermittler vaskuloprotektiver Östrogen-Effekte bei der TVP diskutiert wird,<sup>76</sup> liegen bis heute keine Daten über die Verteilung von Östrogen-Rezeptor-Subtypen in den Koronargefäßen prä- und postmenopausaler Frauen vor. Darüber hinaus konnte in tierexperimentellen Untersuchungen dargelegt werden, dass die Transkriptionsrate des Östrogen-Rezeptors Beta nur bei weiblichen Tieren mit zunehmendem Alter abnimmt, und die Gabe von Testosteron zu einer Herabregulation dieses Rezeptors bei beiden Geschlechtern führt, und zwar unabhängig vom Lebensalter der Tiere.<sup>204</sup> Da in der hier vorgelegten Arbeit der prä- und postmenopausale Status ausschließlich anhand des Lebensalters definiert wurde (<50 Jahre vs. ≥50 Jahre), sind ergänzende Untersuchungen von Geschlechtshormonspiegeln und Östrogen-Rezeptor-Subtyp-Expressionen bei HTx-Empfängern und Spendern erforderlich, um dieses Klientel weiter zu charakterisieren. Wenn allerdings der vaskuloprotektive und immun-modulierende Effekt der Östrogene<sup>76</sup> und ihrer Rezeptoren<sup>203</sup> tatsächlich das Zusammenspiel von myokardialer Ischämie und immunologischer Auseinandersetzung als zentrale Einheiten der Vaskulopathie nach HTx<sup>4, 73, 133</sup> orchestrieren, würde sich daraus ein hochinteressanter Ansatz für die Entwicklung neuer, klinisch relevanter therapeutischer Strategien ableiten.

Das Empfängergeschlecht betreffend zeigten einige Untersuchungen keine Differenzen im Überleben nach HTx,<sup>205, 206</sup> während Taylor und Kollegen<sup>3</sup> einen Überlebensvorteil von weiblichen Empfängern im Langzeitverlauf nach HTx darlegten. Auch in dieser Arbeit konnte das weibliche Empfängergeschlecht als Vorteil für das Überleben im Langzeitverlauf herausgearbeitet werden. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass Frauen ein geringeres Risiko hatten fatale kardiale Ereignisse zu erleiden, die das klinische Hauptmerkmal der TVP nach HTx darstellen.<sup>4, 109</sup> Dieses Ergebnis war unabhängig vom Bestehen einer stenosierenden epikardialen TVP, die in 19% der untersuchten Fälle auftrat und wie bereits beschrieben vornehmlich das männliche Geschlecht betraf.<sup>35, 75</sup> Möglicherweise entwickelt sich bei weiblichen HTx-Empfängern eine diffusere, jedoch nicht letale Verlaufsform der Vaskulopathie nach HTx. Diese Hypothese wird dadurch gestützt, dass herztransplantierte Frauen mit TVP nur in wenigen Fällen fokale Läsionen ausbilden, die einer interventionellen Therapie zugänglich sind.<sup>35, 75</sup> Gegensatz zu Männern vermehrt Zusätzlich scheinen sie im endomyokardiale Architekturveränderungen auszubilden,<sup>163</sup> die auf einen generalisierten Befall durch TVP mit Beteiligung der Endstrombahn hinweisen.

Bei der stenosierenden MVP war das Zeitintervall bis zum Auftreten fataler kardialer Ereignisse unabhängig vom Spendergeschlecht. Zu diesem Ergebnis kamen bereits De Santo und Mitarbeiter,<sup>206</sup> während andere Studien<sup>3, 164</sup> eine erhöhte Mortalität bei Patienten beschrieben, die Organe von weiblichen Spendern erhielten. Diese gegensätzlichen Ergebnisse in der Literatur beruhen wahrscheinlich auf der unterschiedlichen Definition der klinischen Endpunkte, denn die zitierte Literatur analysierte die Gesamtmortalität, während hier auf die kardiale Mortalität fokussiert wurde.

57

### 2.6.4 Risikofaktoren für die Entwicklung einer Mikrovaskulopathie nach Herztransplantation

Der aktuelle Wissensstand über Risikofaktoren für die Entwicklung einer TVP nach HTx beschränkt sich auf experimentelle Modelle und klinische Untersuchungen, die ausschließlich das epikardiale Strombett und die Intima als Manifestationsäquivalent der TVP analysieren. In der vorliegenden Arbeit werden erstmals Risikofaktoren für einen mikrovaskulären Befall untersucht und als solche der Quilty, das Auftreten endothelialer Veränderungen innerhalb der ersten drei Monate nach HTx sowie die Transplantations-Ära 1986–1988 bestimmt. Ebenso wie bei der epikardialen TVP zeigte eine lipidsenkende Therapie protektive Effekte bei der mikrovaskulären Manifestationsform.

Der Quilty wurde anhand koronarangiographischer<sup>128</sup> und intravaskulärer Ultraschalluntersuchungen<sup>158</sup> auch als Risikofaktor für die Entwicklung einer epikardialen TVP belegt. Joshi und Kollegen<sup>113</sup> demonstrierten zwar eine erhöhte Prävalenz der epikardialen TVP in koronarangiographischen Erstuntersuchungen von Quilty-positiven Patienten, zeigten allerdings in deren Nachuntersuchungen einen signifikanten Rückgang epikardialer Gefäßveränderungen. Da die in der hier vorliegenden Arbeit bewerteten koronarangiographischen Untersuchungen nicht einem strikten jährlichen Follow-up unterlagen, können hierzu keine korrespondierenden Daten vorgelegt und diskutiert werden.

Zusätzlich zum Quilty werden in der Literatur eine Vielzahl von Risikofaktoren vermutet, die die Entwicklung einer TVP nach HTx begünstigen. Gemäß der vorliegenden Ergebnisse wurden Patienten mit stenosierender MVP häufiger aufgrund einer koronaren Herzkrankheit transplantiert. Dieser Befund ist auch für die epikardialer TVP beschrieben.<sup>3, 71</sup> Obwohl in den untersuchten Biopsien importierte und damit vom Spender übertragene vaskuläre Veränderungen nicht ausgeschlossen werden können, erscheint ein solcher Zusammenhang wenig wahrscheinlich, denn eine stenosierende MVP war signifikant mit einem jüngeren Spendergeschlecht assoziiert. Da die TVP nach HTx als immunvermittelter Prozess betrachtet wird,<sup>4, 57, 73</sup> könnte letzteres Ergebnis mit einer "Immun-Seneszenz" in Verbindung stehen, die sich mit zunehmendem Alter entwickelt.<sup>207</sup>

Auf dem Gebiet der immunsystem-vermittelten ätiopathogenetischen Mechanismen werden auch akute zelluläre Abstoßungsepisoden als Risikofaktoren für eine epikardiale TVP diskutiert.<sup>4, 7, 19, 68, 91, 93, 133, 154-156</sup> Basierend auf den hier präsentierten Ergebnissen scheinen akute zelluläre Rejektionen auch eine Rolle bei der stenosierenden MVP zu spielen, allerdings war dieser Parameter nur in der univariaten Regressionsanalyse signifikant.

Im Gegensatz zur epikardialen TVP<sup>73</sup> zeigten Patienten mit stenosierender MVP signifikant kürzere Reperfusionszeiten. Während der kardiopulmonalen Bypasszeit werden durch die Interaktion zwischen Bestandteilen des Blutes und der synthetischen Oberfläche der Herz-Lungen-Maschine Plasmaproteinsysteme und Blutzellen aktiviert, die eine Vielzahl vasoaktiver Substanzen produzieren. Thrombozyten werden aktiviert, aggregieren und setzen den Inhalt ihrer Granula frei,<sup>208</sup> darunter z. B. auch PDGF. Anhand autoptischer Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass dieser Faktor mit der epikardialen TVP assoziiert ist.<sup>99</sup> Überdies ist bekannt, dass er einer der Haupt-Mitogene für die Proliferation glatter Muskelzellen ist.<sup>167</sup> Da gemäß eigenen Voruntersuchungen<sup>7, 8, 149</sup> die stenosierende MVP als Ergebnis einer Proliferation von vaskulären glatten Muskelzellen betrachtet werden muss,

scheint PDGF dabei eine wichtige Rolle zu spielen oder sogar einen der initialen Schritte bei der Entwicklung der stenosierenden MVP zu vermitteln. Eine verlängerte Reperfusionszeit könnte mit einem erhöhten Verbrauch und konsekutivem Entzug dieses Faktors aus der ätiopathogenetischen Kaskade der MVP einhergehen und somit den Befund kürzerer Reperfusionszeiten bei Patienten mit stenosierender MVP erklären. Die Hypothese über die Bedeutung von PDGF für die Entwicklung mikrovaskulärer Veränderungen wird durch die Beobachtung gefestigt, dass Patienten mit stenosierender MVP seltener an einem Assist-Device vor HTx waren, da diese Patienten gemäß klinischer Praxis mit Thrombozytenaggregationshemmern behandelt werden,<sup>209</sup> die PDGF-antagonistische Effekte besitzen.<sup>167</sup>

Die Interaktion zwischen vaskulären glatten Muskelzellen und Endothelzellen spielt eine Schlüsselrolle bei der Entwicklung einer epikardialen TVP.<sup>4, 57, 143</sup> Gemäß der vorliegenden Untersuchungen war der Nachweis von Endothelzellveränderungen signifikant mit dem Auftreten einer stenosierenden MVP assoziiert. Daher lässt sich vermuten, dass die Endothelzelle zentrale Schaltstelle der TVP auf allen Ebenen der koronaren Strombahn ist und teilweise gleiche pathogenetische Mechanismen sowohl in der epikardialen als auch terminalen Strombahn wirksam werden. Allerdings fanden sich im ersten Jahr nach HTx keine Beziehungen zwischen der stenosierenden epikardialen und mikrovaskulären Manifestationsform, dass auf weitere modulierende Faktoren schließen lässt, die den Phänotyp dieser Erkrankung determinieren und noch zu definieren sind.

Statinen<sup>83, 98</sup> und antihypertensiven Medikamenten wie Kalzium-Kanal-Blockern und Angiotensin-Converting-Enzym-Hemmern<sup>23, 184</sup> wurden protektive Effekte bei der epikardialen TVP zugeschrieben und scheinen auch auf mikrovaskulärer Ebene schützende Effekte zu entwickeln. Die geringere Prävalenz einer stenosierenden MVP bei Patienten mit einer kompensierten oder terminalen Niereninsuffizienz ist wahrscheinlich auch als "Statin-Effekt" zu werten, da die Mehrzahl dieser Patienten gleichzeitig unter einer lipidsenkenden Medikation stand.

Da CMV als Risikofaktor für die Entwicklung einer epikardialen TVP diskutiert wird<sup>4, 19, 71</sup> erscheint es suspekt, dass Patienten mit stenosierender MVP seltener einen positiven CMV-Status bei HTx aufwiesen und auch seltener nach HTx aufgrund einer CMV-Infektion virostatisch behandelt wurden. Allerdings beschränkt sich die Auswertung des CMV-Status bei HTx auf eine Subgruppenanalyse, so dass diese Frage in einem prospektiven Ansatz reevaluiert werden sollte. Darüber hinaus ist die Therapie einer CMV-Infektion in der Regel mit einer aggressiveren ambulanten oder sogar stationären Behandlung verbunden, so dass dieser Befund möglicherweise einen "Management-Effekt" darstellt. Letzterer wird auch als Erklärung für den sog. "Ära-Effekt" bei der epikardialen TVP favorisiert,<sup>3</sup> der für die stenosierende MVP gleichermaßen gezeigt werden konnte.

Aufgrund der homogenen Tripelimmunsuppressionstherapie aus Cyclosporin A und Azathioprin wurde der Einfluss verschiedener immunsuppressiver Regime auf die Entwicklung einer stenosierenden MVP nicht untersucht. Diesbezüglich sind auch keine Referenzdaten verfügbar, da die publizierten Behandlungsansätze ausschließlich auf Prävention und Therapie der epikardialen TVP fokussieren.<sup>11, 43, 98, 116</sup>

59

Wie in **Kapitel 2.4.4** dargelegt, war die stenosierende MVP nicht nur bei Nachweis in mindestens einer Probe des Gesamtbiopsievolumens, sondern auch bei Nachweis innerhalb der ersten und letzten drei Monate des ersten Jahres nach HTx mit dem Auftreten fataler kardialer Ereignisse korreliert. Bei Analyse der klinischen Charakteristika dieser zwei Subpopulationen zeigten Patienten mit stenosierender MVP zusätzlich zu den bereits dargelegten Merkmalen eine kürzere Ischämiezeit. Dieser Befund steht Ergebnissen bei der epikardialen TVP entgegen.<sup>73</sup> Im Tiermodell konnte allerdings gezeigt werden,<sup>210</sup> dass eine lange Ischämiezeit präventive Effekte auf das Auftreten hyperakuter Abstoßungsreaktionen besitzt. Ursächlich dafür wurden Veränderungen der endothelialen Oberfläche vermutet.<sup>210</sup> Unter der Vorstellung, dass ähnliche Mechanismen beim Menschen möglicherweise die "Bereitschaft" zur zellulären Rejektion modulieren, wäre die kürzere Ischämiezeit in Zusammenschau mit der akuten zellulären Rejektion zu bewerten, die mit dem Auftreten der stenosierenden MVP assoziiert war.

Die höhere koronarangiographische Prävalenz von stenosierenden Läsionen des R. interventricularis anterior bei Patienten mit einer stenosierenden MVP am Ende des ersten Jahres nach HTx wirft die Frage auf, in wieweit die bioptische MVP möglicherweise einen frühen Surrogatmarker für die epikardiale stenosierende Manifestationsform der TVP darstellt. Da jedoch koronarangiographische Untersuchungen nur von einer Subpopulation zur Verfügung standen, sollte diese Hypothese in weiteren Untersuchungen validiert werden.

#### 2.6.5 Studienlimitationen

Die Untersuchungen wurden retrospektiv durchgeführt, daher standen keine intravaskulären Ultraschalluntersuchungen oder Stress-Teste zur Verfügung, um die funktionelle Bedeutung der mikrovaskulären Veränderungen zu evaluieren. Aus diesem Grunde wurde für die vorliegende Studie als klinischer Endpunkt das Auftreten fataler kardialer Ereignisse festgelegt. Die Untersuchungen sind auf rechtsventrikuläre Gewebeproben aus dem Bereich des Interventrikularseptums beschränkt. Zwar kann ein Stichprobenfehler nicht ausgeschlossen werden, jedoch erscheint dieser unter den im Methodenteil genannten Bedingungen der Blutgefäß- und Kardiomyozytendichte im rechts- und linksventrikulären Myokard nicht als gravierende Studienlimitation. Die Anzahl der Frauen in der Population war gering, jedoch typisch für das Klientel herztransplantierter Patienten.

# III. Prospektive Untersuchungen zur Mikrovaskulopathie nach HTx

### 3.1 Ziele

Obwohl herztransplantierte Patienten regelmäßig untersucht werden, sind in diesen Untersuchungen bisher keine ausreichenden Möglichkeiten gegeben, die unter Berücksichtigung des unterschiedlichen zeitlichen Verlaufs und der Ausprägung der Transplantatvaskulopathie eine sichere und rechtzeitige Diagnose dieser Erkrankung ermöglichen. Bei der Erkennung der wichtigen Frühformen kardiovaskulärer Veränderungen nach Herztransplantation stoßen die derzeit für sich allein verwendeten invasiven und nicht-invasiven Verfahren an ihre methodischen Grenzen.

Daher wurde im Jahre 2003 ein prospektives Projekt initiiert, in dem durch die nahezu zeitgleiche Anwendung anerkannter morphologischer und funktioneller Methoden der makro- und mikrovaskulären Blutgefäßstatus herztransplantierter Patienten evaluiert wurde.

In Anlehnung an die offenen Fragen aus dem retrospektiven Teil dieser Arbeit (**Kapitel II**) wird im prospektiven Abschnitt zu folgende Punkten Stellung genommen:

- (A) Welche funktionelle Bedeutung und welche Bedeutung f
  ür das endomyokardiale Remodelling haben bioptisch nachweisbare, nach dem vorgeschlagenen Graduierungssystem klassifizierte mikrovaskulären Veränderungen nach Herztransplantation?
- (B) Sind die hier klassifizierten mikrovaskulären Veränderungen mit bestimmten morphologischen Erscheinungsformen der epikardialen Transplantatvaskulopathie assoziiert?
- (C) Gibt es neben den retrospektiv erarbeiteten Risikofaktoren noch andere klinische Parameter, die für die Entwicklung eines mikrovaskulären bzw. eines generalisierten Befalls bedeutsam sind?

### 3.2 Patienten und Studiendesign

Nach positivem Votum der lokalen Ethikkommission wurden prospektiv alle Patienten eingeschlossen, die sich am Deutschen Herzzentrum Berlin einer HTx unterzogen, schriftlich in die Studienteilnahme eingewilligt hatten und mindestens 18 Jahre alt waren.

Ausgeschlossen wurden alle Patienten, die eine Teilnahme ablehnten, bei denen eine höhergradige atrioventrikuläre Blockierung bestand ohne dass der Patient über einen Herzschrittmacher verfügte, bei denen ein Kreislaufschock oder Vorstufen desselben bestanden sowie schwangere und stillende Patientinnen. **Abbildung 10** stellt den Ablauf der durchgeführten Untersuchungen dar. Jeweils 4 Wochen (Follow up 1, FU1) und ein Jahr nach HTx (Follow up 2, FU2) wurden die Patienten koronarangiographisch und anhand intravaskulärer Ultraschalluntersuchungen und Gefäßfunktionstests untersucht. Zusätzlich zur bildgebenden und funktionellen Diagnostik der Koronararterien erfolgte die Entnahme von rechtsventrikulären Biopsieproben und die Erhebung eines klinischen Status inklusive Spiroergometrie. Die Blutproben für die serologischen Untersuchungen wurden vor den koronarangiographischen Studien gewonnen, um den Einfluss von ASS oder Clopidogrel bei ggf. notwendiger Stentimplantation auf die evaluierten Zielparameter auszuschließen.



Abbildung 10: Ablauf der Untersuchungen

#### 3.3 Immunsuppression

Die Immunsuppression vor HTx beinhaltete die Gabe von Cyclosporin A (5 mg/kg KG) in Kombination mit Everolimus (Certican ®, 0,75 mg) oder Mycophenolat Mofetil (CellCept ®, 1 g) sowie 500 mg Prednisolon. Intraoperativ erfolgte eine zweite Gabe von Prednisolon (500 mg) bei Öffnung der Aortenklemmung und die dritte Gabe in gleichen Dosierung wurde 6 Stunden nach Reperfusion verabreicht. Anschließend erfolgte alle 6 Stunden eine Cortisongabe von 125 mg.

Die Induktionstherapie bestand aus anti-Thymozyten-Globulin (Thymoglobulin ®, 5 mg/kg KG) am Tag der HTx und am 1. Tag danach. Bei Allergie gegen Kanincheneiweiß, Temperaturen >38°C oder Katecholaminpflichtigkeit wurde die Induktionstherapie mit Basiliximab geführt (Simulect ®, 20 mg, als Kurzinfusion am 0. und 4. postoperativen Tag).

Die Erhaltungstherapie bestand aus einem Tripelschema mit Cyclosporin A, Mycophenolat Mofetil oder Everolimus und Cortison. Bei Auftreten von neurotoxischen Nebenwirkungen, Hirsutismus oder Gingivahyperlasie wurde Cyclosporin A durch Tacrolimus (Prograf ®) ersetzt. Die Zielspiegel der Calcineurininhibitoren und von Everolimus wurden anhand eines Enzym-Immuno-Assays im Vollblut bestimmt. Der Zielspiegel für Cyclosporin A betrug bei Kombination mit Mycophenolat Mofetil innerhalb der ersten 6 Monate 250 ng/ml und 6–12 Monate nach HTx 150-200 ng/ml. Bei Kombination von Cyclosporin A mit Everolimus wurde der Zielspiegel 0–3 Monate nach HTx bei 175–200 ng/ml, 4–6

Monate nach HTx bei 135–150 ng/ml und ≥7 Monaten nach HTx bei 80–100 ng/ml gehalten. Die Zielspiegel für Tacrolimus betrugen 0–3 Monate nach HTx 15–18 ng/ml, 3–6 Monate nach HTx 12–15 ng/ml, 6–9 Monate nach HTx 10–12 ng/ml und 10–12 Monate nach HTx 8–10 ng/ml. Mycophenolat Mofetil wurde anhand der peripheren Leukozytenanzahl adaptiert (30–50 mg/kg KG, Leukozytenanzahl nicht ≤3.500/µl) mit einer Zieldosis von 2–3 g/Tag. Die Gabe von Everolimus betrug 2x 0,75 mg täglich mit einem Zielspiegel von 3–8 ng/ml. Die Cortisontherapie erfolgte nach einem absteigenden Schema mit initial 1 mg/kg KG, nach einer Woche 0,5 mg/kg KG, nach 2 Wochen 0,3 mg/kg KG, nach 6 Wochen 0,25 mg/kg KG bis zur Erhaltungsdosis von 0,15 mg/kg KG nach 2 Monaten. Akute zelluläre Rejektionen Grad 1A–2<sup>176, 177</sup> wurden über 10 Tage mit einem oralen Kortisonschema behandelt. Alle zellulären Rejektionen des Grades 3A oder höher<sup>176, 177</sup> oder klinisch symptomatische

behandelt. Alle zellulären Rejektionen des Grades 3A oder höher<sup>176, 177</sup> oder klinisch symptomatische Abstoßungen wurden für drei Tage intravenös mit polyklonalen Antikörpern (Anti-Thymozyten-Globulin) und Steroiden therapiert.

#### 3.4 Methoden

#### 3.4.1 Koronarangiographie, IVUS und Gefäßfunktionsteste

Nach einer hämodynamischen Basisuntersuchung erfolgte eine Ventrikulographie und eine Routinedarstellung der Koronararterien in mehreren Ebenen. Die endothelzellunabhängige Gefäßfunktion (Arteriolen) wurde durch Beurteilung der lokalen Gefäßreaktion auf Nitroglyzerin und der Flussgeschwindigkeitsreserve nach Gabe von Adenosin ermittelt.<sup>172, 173</sup> Die Endothelfunktion wurde durch endothelzellrezeptorstimulierende pharmakologische Testung mit Acetylcholin<sup>170, 171</sup> und durch Messung der flussabhängigen Vasodilatation geprüft. Zur Durchführung der Funktionsteste wurde eine intravaskuläre Ultraschallsonde (Endosonics® 3.4F Visions Five-64 F/X) mit Dopplersonde über einen Ultraschalldopplerführungsdraht (Cardiometrics® FloWire<sup>™</sup>)<sup>211</sup> im proximalen oder oberen medialen R. interventricularis anterior (RIVA) platziert. Die Bewertung vaskulärer Veränderungen erfolgte unter automatischem Rückzug und Nitroglyzerin-Gabe nach Positionierung des IVUS-Katheters im distalen R. interventricularis anterior. Flussgeschwindigkeiten, Gefäßquerschnitte und Drücke wurden während der Testungen kontinuierlich aufgezeichnet. Nach einer Ausgangsflussgeschwindigkeitsmessung mit synchronem IVUS und Basisangiogramm folgte die Messung der endothelunabhängigen Flussreserve mittels i. c. Bolusinjektion von 30 µg Adenosin. Zur Testung der Endothelfunktion wurden Acetylcholinverdünnungen in 2 verschiedenen Konzentrationen vorbereitetet (2\*10-6mol/l und 2\*10-5mol/l). Die Infusion erfolgte stufenweise beginnend mit der niedrigen Dosierung von 1 ml/min über 3 min. Dabei wurden IVUS und Dopplerflussgeschwindigkeit ohne Unterbrechung registriert. Am Ende erfolgte eine intrakoronare Bolusinjektion von 0,15 mg Nitroglyzerin.<sup>62, 212</sup> Zum Abschluss erfolgte ein Angiogramm zur Dokumentation. Spasmen waren ein Abbruchkriterium, wurden unverzüglich dokumentiert und mit Nitroglyzerin als Antidot behandelt. Die mittels der Dopplersonde bestimmten Geschwindigkeiten und Geschwindigkeitszunahmen wurden digital und als Hardcopy (Trend) aufgezeichnet. Am Ende der Untersuchung erfolgte gemäß klinischem Standard die Entnahme von mindestens 3 rechtsventrikulären Endomyokardbiopsieproben.<sup>176, 177</sup>

Die Gesamtbeurteilung der koronarangiographischen Veränderungen erfolgte in Anlehnung an die Stanford-Klassifikation nach Gao<sup>18</sup> (**Abbildung 11A und 11B**). Hierbei wurden Kaliberschwankungen als nicht-stenosierende, perlschnurartige Unregelmäßigkeiten in Projektion auf das Blutgefäßlumen definiert. Das Tapering (Gefäßverjüngung) wurde als pathologisch eingestuft, wenn sich (durch diffuse Plaquebildung) keine kontinuierliche Verjüngung des Gefäßes nach distal fand. Als periphere Obliterationen wurde Abbrüche der tertiären Gefäßäste graduiert.



Abbildung 11: (A) Stanford-Klassifikation der Transplantatvaskulopathie in der Koronarangiographie und (B) ergänzende Kriterien

Die qualitative Beurteilung der Veränderungen im IVUS wurde gemäß der Stanford-Klassifikation nach Valantine<sup>135</sup> durchgeführt und durch eine Beschreibung der longitudinalen Ausdehnung der Blutgefäßveränderungen ergänzt (**Abbildung 12**). Dabei wurde zwischen einem fokalen (einzelne, diskrete Läsion im gesamten RIVA), polyfokalen (multiple diskrete Läsionen getrennt durch regelrechte Koronarabschnitte in einem oder mehreren Koronarsegmenten) und diffusen Verteilungsmuster (diffuse Plaqueausdehnung über mehr als ein Koronarsegment) unterschieden.<sup>84</sup>



### Abbildung 12: Longitudinalen Plaqueausdehnung im intravaskulären Ultraschall am Beispiel eines diffusen Verteilungsmusters<sup>84</sup>

LCA, Hauptstamm, RIVA, R. interventricularis anterior; RCX, R. circumflexus

Die eingesetzten diagnostischen Kriterien wurden in ihrer Bewertung einem epikardialen und generalisierten Blutgefäßbefall zugeordnet (**Tabelle 21**). Alle Untersuchungen erfolgten verblindet gegenüber den klinischen Merkmalen der Patienten.

# Tabelle 21:Diagnostische Kriterien für einen epikardialen und generalisiertenBlutgefäßbefall der Transplantatvaskulopathie

Koronarangiographie	IVUS	Gefäßfunktionstests
Epikardial		
Kaliberschwankungen	Fokal, polyfokal alle Grade <sup>1</sup>	Endothelfunktion
Typ A, B1, B2, C-Läsionen		
Pathologisches Tapering		
Generalisiert		
Periphere Obliterationen	-	Endothelfunktion
		CFR

<sup>1</sup>Stanford-Grade I–IV; CFR, koronare Flussgeschwindigkeitsreserve; IVUS, intravaskulärer Ultraschall

# 3.4.2 Histologische, histomorphometrische und immunhistochemische Untersuchungen

Die histologischen Untersuchungen wurden an rechtsventrikulären Endomyokardbiopsieproben durchgeführt, die nach ihrer Entnahme sofort in 4%iger neutral gepufferter Formalinlösung fixiert und mittels Standard-H&E-Färbung (Mayer's Hemalum und Eosin, Merck ®) aufbereitet wurden. Die Bewertung der mikrovaskulären Veränderungen erfolgte gemäß des bereits im **Kapitel 2.3.2** (**Abbildung 1**) vorgestellten Graduierungssystems. Die Beurteilung der akuten zellulären Rejektion wurde streng nach den Vorgaben der ISHLT durchgeführt<sup>111, 176</sup> und, um Vorstufen akuter Abstoßungen zu erfassen, um den Rejektionsgrad 01A ergänzt. Gemäß internationalem Standard wurde das Quilty-Phänomen in eine nicht-invasive Form (Quilty A) und in eine invasive Form (Quilty B) graduiert.<sup>197, 198</sup>

Neben der histologischen Untersuchung wurden die Biopsieproben anhand der Avidin-Streptavidin-Methode<sup>213</sup> nach dem am Deutschen Herzzentrum Berlin routinemäßig eingesetzten Standardprogramm immunhistochemisch untersucht:

- CD3 (Klon SP7, DCS Innovative Diagnostik-Systeme),<sup>214</sup> CD4 (Klon 1F6, Novocastra Laboratories Ltd.),<sup>215</sup> zur Darstellung der T-Zellen
- CD20 (Klon L26, Zymed)<sup>216</sup> zur Charakterisierung der B-Zellen
- CD68 (Klon KP1, Zymed),<sup>217</sup>, zur Darstellung der Makrophagen
- CD31 (Klon JC/70A, BioGenex),<sup>218</sup> CD34 (Klon My10, Becton Dickinson),<sup>219</sup> zur Charakterisierung der Endothelzellen
- Alpha-Aktin (Klon 1A4, Zymed),<sup>220</sup> zur Darstellung der vaskulären glatten Muskelzellen
- PCNA (Klon PC10, BioGenex),<sup>221</sup> als Proliferationsmarker
- Collagen III (interstitielles Bindegewebe; Klon HWD1.1, BioGenex) und IV (Basalmembran; Klon COL-94, BioGenex)<sup>222</sup>
- IgA (Klon 6E2C1, Dako), IgM (Klon R1/69, Dako),<sup>223</sup> IgG (Klon A57H, Dako),<sup>224</sup> C1q (polyklonal, Dako),<sup>225</sup> C3c (polyklonal, Dako),<sup>225</sup> und Fibrinogen (polyklonal, Dako)<sup>225</sup> als Parameter der humoralen (=vaskulären) Rejektion

Die Bewertung der immunhistochemischen Reaktionen erfolgte mittels Freitext (schwach positiv bis stark positiv), der anhand einer aufsteigenden Zahlenreihe mit 5 Stufen kodiert wurde.

Das Ausmaß myokardialer Folgeschäden wurde semiquantitativ (geringgradig, mittelgradig, schwer) durch die Parameter Hypertrophie und Kaliberunterunterschiede der Herzmuskelzellen sowie Größenunterschiede der Herzmuskelzellkerne beurteilt.

Die histomorphometrischen Untersuchungen erfolgten an Sirius-gefärbten Präparaten.<sup>226</sup> Hier wurde das Ausmaß der Fibrose und des Narbengewebes anhand der Graustufensegmentanalyse (Zeiss Vision®) quantifiziert.

Alle Untersuchungen erfolgten verblindet gegenüber den klinischen Merkmalen der Patienten.

### 3.4.3 Molekularbiologische Untersuchungen zur Detektion viraler Genome

Bei jeder Nachuntersuchung wurde jeweils eine Blut- und Biopsieprobe für die molekularbiologische Bestimmung der Viruslast gewonnen. Die Biopsie- bzw. Blutproben wurden in RNA-Later verbracht und anhand der Nested- (RT-) PCR<sup>227, 228</sup> auf die Präsenz von humanem CMV (HCMV), Epstein-Barr Virus (EBV), Herpes Simplex Virus 1 und 2 (HSV1/2), Humanem Herpes Virus 6 (HHV6), Humanem Herpes Virus (HHV 8), Enteroviren (inklusive Coxsackie-Viren der Gruppe A und B, Echoviren), Adenoviren und Parvovirus B19 (PVB19) untersucht. Die quantitative Real-Time PCR wurde zur Bestimmung der Viruslast von PVB19 durchgeführt.<sup>227</sup> Die Spezifität der PCR-Produkte wurde durch automatische DNA-Sequenzierung bestätigt.<sup>227, 228</sup>

#### 3.4.4 Zytoimmunologisches Monitoring

Anhand des zytoimmunologischen Monitorings wurden im peripheren Blut zirkulierenden Lymphozyten subtypisiert und quantitativ erfasst. Die genaue Charakterisierung dieser Zellen erfolgte mittels monoklonaler Antikörper gegen Differenzierungs- und Aktivierungsantigene.<sup>229-231</sup> Die Standarddifferenzierung der Lymphozyten beinhaltet am Deutschen Herzzentrum Berlin folgende Subtypisierungen:

- Lymphozyten in %
- T-Lymphozyten in %
- B-Lymphozyten in %
- Aktivierte T-Lymphozyten in %
- T-Helfer-Zellen (CD4+) in %
- T-Suppressor-Zellen (CD8+) in %
- Ratio T-Helfer-/T-Suppressor-Zellen
- NK-Zellen in %
- LAK-Zellen in %
- Absolute Lymphozyten in cells/µl
- Absolute T-Lymphozyten in cells/ $\mu$ l
- Absolute B-Lymphozyten in cells/ $\mu$ l
- Absolute aktivierte T-Lymphozyten in cells/ $\mu$ l
- Absolute T-Helfer-Zellen in cells/ $\mu$ l
- Absolute T-Suppressor-Zellen in cells/ $\!\mu l$
- Absolute NK-Zellen in cells/ $\!\mu l$
- Transferrinrezeptorexpression auf Monozyten (TR+ Mono) in %
- Absolute LAK-Zellen in cells/µl

Als Ausdruck einer Immunaktivierung wurden folgende Konstellationen angenommen:<sup>229-231</sup>

- ein Anstieg des CD4:8-Verhältnisses auf >2,5 oder
- ein Anstieg der aktivierten Lymphozyten auf >10% bzw.
- ein Anstieg des Transferrinrezeptors auf >5 % bzw.
- ein Anstieg der DR+ Monozyten

#### 3.4.5 Weitere serologische Untersuchungen

Anhand der Blutproben wurde ein Lipidstatus erhoben, der folgende Parameter beinhaltete:

- Gesamtcholesterin in mg/dl
- LDL-Cholesterin in mg/dl
- HDL-Cholesterin in mg/dl
- Triglyzeride in mg/dl
- Lipoprotein (a) in mg/dl

Des weiteren wurden bei jeder Nachuntersuchung ein Thrombozytenaggregationstest (TAT) mit ADP, Collagen, Epinephrin und Arachidonsäure sowie ein Thrombelastogramm (TEG) angefertigt.<sup>232</sup> Zusätzlich wurden C-reaktives Protein (CRP), Fibrinogen und Antithrombin (AT) III als Akute-Phasen-Proteine und NT-pro-BNP<sup>233</sup> bestimmt sowie eine serologische CMV-Diagnostik durch Bestimmung des pp65-Antigens vorgenommen.<sup>19</sup>

#### 3.4.6 Spiroergometrie und klinischer Status

Die objektive Belastbarkeit der Patienten wurde mittels der Spiroergometrie (Naughton-Protokoll)evaluiert.<sup>234</sup> Zusätzlich wurde das subjektive Befinden (sehr gut, gut, mäßig, schlecht), sowie das Auftreten einer Angina pectoris- oder Dyspnoe-Symptomatik bei Belastung, von Palpitationen oder Ödemen dokumentiert und die Immunsuppression sowie die nichtimmunsuppressive Therapie erfasst.

#### 3.4.7 Statistik

Für die statistische Analyse wurde SPSS für Windows (Version 11.1) verwendet. Die Ergebnisse sind als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes angegeben. Bei der Analyse der demographischen Daten, der klinischen, paraklinischen, morphologischen und funktionellen Befunde der Patienten wurden metrische Parameter mittels des Student T- oder One-Way ANOVA-Test und nominal oder ordinal skalierte Parameter anhand des  $\chi^2$ -Test oder Fisher-Exakt-Test verglichen. Risikofaktoren für die Entwicklung mikrovaskulärer und generalisierter Blutgefäßveränderungen wurden anhand der logistischen Regression überprüft. Dem univariaten Ansatz wurde eine multivariate Regressionsanalyse (rückwärts, bedingt) nachgestellt. In den bereits vorgestellten retrospektiven Untersuchungen wurde nur die Ausprägung der stenosierenden Mikrovaskulopathie als signifikanter Risikofaktor für das Auftreten kardialer Todesfälle identifiziert. Das Auftreten von Endothelveränderungen stellte sich dabei als Risikofaktor für die Entwicklung stenosierender Mediaveränderungen dar. Aus diesem Grunde wurde in der logistischen Regressionsanalyse bei den Befundparametern der terminalen Strombahn nur auf diese beiden morphologischen Entitäten eingegangen. Ein p<0,05 wurde als statistisch signifikant angenommen.

### 3.4.8 Synopsis diagnostischer Untersuchungen und ätiopathogenetischer Überlegungen zur Transplantatvaskulopathie

**Abbildung 13** erfasst die Synopsis der diagnostischen Untersuchungen und **Abbildung 14** stellt die ätiopathogenetischen Überlegungen zum Phänomen der TVP dar.



Abbildung 13: Diagnostische Kriterien der TVP nach HTx

\*Kriterien des generalisierten Blutgefäßbefalls; CFR, koronare Flussgeschwindigkeitsreserve; HTx Herztransplantation; TVP, Transplantatvaskulopathie





CD3/4, T-Zellmarker; CD20, B-Zellmarker; CD31/34, Endothelzellmarker; CD68, Makrophagen; CD4:CD8, Ratio T-Helfer- zu T-Suppressorzellen im zytoimmunologischen Monitoring; CMV pp65, serologisches Cytomegaliervirus-Antigen; HTx Herztransplantation; PCNA, Proliferating Nuclear Cell Antigen; TAT, Thrombozytenaggregationstest; TEG, Thrombelastogramm; TVP, Transplantatvaskulopathie

### 3.5 Ergebnisse

### 3.5.1 Patienten

Zwischen dem 17.06.2003 und 12.08.2006 wurden 78 Patienten in den prospektiven Arm der Studie aufgenommen (**Tabelle 22**). Das mittlere Empfängeralter bei HTx betrug 50 Jahre und die Mehrzahl der Patienten wurde aufgrund einer dilatativen Kardiomyopathie transplantiert (69%). In jeweils 21 (27%) der Fälle erfolgte eine nicht-geschlechteridentische HTx bzw. lag ein CMV-Missmatch zwischen CMV-negativem Empfänger und CMV-positiven Spender vor.

Parameter		
Empfängeralter bei HTx, Jahre	50±1,4	(18–67)
Empfänger männlich, n (%)	67 (86%)	
Empfänger Indikation zur HTx, n (%)		
dKMP	54 (69%)	
КНК	18 (23%)	
Andere	6 (8%)	
Empfänger am Assist vor HTx, n (%)	33 (42%)	
Empfänger CMV+ bei HTx, n (%)	47 (60%)	
Spenderalter	41±1,4	(16–70)
Spender männlich, n (%)	52 (67%)	
Geschlechter-Missmatch, n (%)	21 (27%)	
CMV-Missmatch bei HTx, n (%)	21 (27%)	
Ischämiezeit, min	212±5,7	(110–341)
Reperfusionszeit, min	187±7,7	(39–361)

#### Tabelle 22: Charakteristika der untersuchten Patienten bei Studienbeginn (n=78)

Daten angegeben als Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes bzw. Anzahl Patienten n (%); CMV, Zytomegalievirus; dKMP, dilatative Kardiomyopathie; HTx, Herztransplantation; KHK, koronare Herzkrankheit; min, Minuten

#### 3.5.2 Koronarangiographische Untersuchungen

Die Ergebnisse der koronarangiographischen Untersuchungen sind in **Tabelle 23** dargestellt. Ein Patient wurde aufgrund seine klinischen Zustandes beim 1. Follow up (FU, 4 Wochen nach HTx) ausgeschlossen. Im FU1 zeigten 4 (5%) Patienten importierte >75%ige Stenosen, die mit PTCA und Stent versorgt wurden. Periphere Obliterationen fanden sich bei fast 20% der Fälle und Kaliberschwankungen waren bei über der Hälfte der Patienten darstellbar. Fast 50% der Patienten zeigten bereits 4 Wochen nach HTx ein pathologisches Tapering. Die Rate verkalkter Läsionen belief sich auf 35%. Die Frequenz von typischen Stanford-Läsionen betraf je Typ nur 5–8% der Patienten. Im FU2 (ein Jahr nach HTx) war bei einem Patienten aufgrund einer neu aufgetretenen hochgradigen Stenose eine PTCA mit Stentimplantation erforderlich. Eine zweite Stentimplantation erfolgte aufgrund einer iatrogenen Dissektion. Keine der im FU1 durchgeführten PTCA und Stent-Implantationen zeigte eine Re-Stenose. Die Inzidenz peripherer Obliterationen betrug 38% (21/56), und ihre Prävalenz belief sich auf 54%. Mehr als zwei Drittel der Fälle (77%) zeigten Kaliberschwankungen unterschiedlicher Grade. Ein normales Tapering wurde in 25% der Fälle diagnostiziert. Stanford Typ B1-Läsionen wiesen eine Inzidenz von 16% (9/56) und eine Prävalenz von 21% auf. Die Inzidenz von Typ B2-Läsionen betrug 34% (19/56) und die Prävalenz 39%.

Parameter	Follow up 1	Follow up 2
	n=77	n=56
PTCA + Stent, n (%)	4 (5%)	2 (4%) <sup>1</sup>
Re-PTCA + Stent, n (%)	entfällt	-
Periphere Obliterationen, n (%)	14 (18%)	30 (54%)
Kaliberschwankungen, n (%)		
Grad I	11 (14%)	13 (23%)
Grad II	9 (12%)	6 (11%)
Grad III	26 (34%)	24 (43%)
Tapering normal, n (%)	36 (47%)	14 (25%)
Kalk, n (%)	18 (23%)	13 (23%)
Läsionstyp nach Stanford, n (%)		
Тур А	4 (5%)	3 (5%)
Тур В1	5 (7%)	12 (21%)
Тур В2	6 (8%)	22 (39%)
Тур С	-	1 (1%)

#### Tabelle 23: Ergebnisse der koronarangiographischen Untersuchungen

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%); PTCA, perkutane transluminale Koronarangioplastie;  ${}^{1}n=1$  aufgrund iatrogener Dissektion

Im FU1 wurden 4 Patienten bei importierten Stenosen mittels PTCA und Stent versorgt. Periphere Obliterationen betrafen fast 20% der Fälle und ca. 50% der Patienten zeigten ein pathologisches Tapering. Typische Stanford-Läsionen zeigten sich bei 5–8% der Patienten. Im FU2 betrug die Inzidenz peripherer Obliterationen 38% bei einer Prävalenz von 54%. Ein normales Tapering zeigte sich nur noch in 25% der Fälle. Stanford Typ B1-Läsionen wiesen eine Inzidenz von 16% und eine Prävalenz von 21% auf. Die Inzidenz von Typ B2-Läsionen betrug 34% und die Prävalenz 39%.
#### 3.5.3 Gefäßfunktionsteste

Die Ergebnisse der Gefäßfunktionsuntersuchungen finden sich in **Tabelle 24**. Im FU1 wiesen 33% der Fälle eine gute, 24% der Patienten eine grenzwertig eingeschränkte und 43% der Patienten eine pathologische Endothelfunktion auf. Fast zwei Drittel der Patienten zeigten im FU1 eine normale CFR unter Adenosin.

Im FU2 war die Endothelfunktion bei über der Hälfte der untersuchten Patienten pathologisch und nur 8 (15%) Patienten zeigten eine regelrechte Endothelfunktion. Die Inzidenz einer pathologischen Endothelfunktion betrug 23% (12/52). Dreiunddreißig (61%) Patienten wiesen eine normale CFR auf. Die Inzidenz einer neu aufgetretenen pathologischen CFR belief sich auf 15% (8/52).

#### Tabelle 24: Ergebnisse der Gefäßfunktionsuntersuchungen

Parameter	Follow up 1	Follow up 2
	n=75	n=56
Endothelfunktion, n (%)		
Gut	25 (33%)	8 (15%)
Grenzwertig	18 (24%)	15 (29%)
Pathologisch	32 (43%)	29 (56%)
CFR normal, n (%)	48 (64%)	33 (61%)

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%); CFR, koronare Flussgeschwindigkeitsreserve

Im FU1 zeigten 33% der Fälle eine gute und 43% eine pathologische Endothelfunktion. Die CFR war bei 64% der Patienten normal. Im FU2 war die Endothelfunktion bei mehr als der Hälfte der Patienten pathologisch. Die Inzidenz einer neu aufgetretenen pathologischen CFR belief sich auf 15%.

#### 3.5.4 Intravaskuläre Ultraschalluntersuchungen

In den IVUS-Untersuchungen des FU1 (**Tabelle 25**) wurden über 50% der Patienten gemäß dem Ausmaß der größten Läsion im RIVA in die Stanford-Klassen III und IV eingestuft. Ein Drittel der Patienten wiesen jeweils ein polyfokales oder diffuses Verteilungsmuster der Läsionen auf. Bei über 60% der Fälle wurden importierte Koronarläsionen diagnostiziert oder der Verdacht auf importierte Koronarläsionen gestellt.

In der Jahresuntersuchung (FU2) wiesen fast zwei Drittel der Fälle Läsionen der Stanford-Klassen III und IV auf. 75% der Patienten zeigten dabei ein polyfokales oder diffuses Verteilungsmuster der Läsionen. In über der Hälfte der Untersuchungen wurde eine Zunahme der Plaquelast festgestellt.

Parameter	Follow up 1	Follow up 2
	n=77	n=56
Läsionstyp nach Stanford, n (%)		
Stanford Klasse I	9 (12%)	6 (8%)
Stanford Klasse II	7 (9%)	10 (19%)
Stanford Klasse III	6 (8%)	6 (11%)
Stanford Klasse IV	38 (49%)	27 (51%)
Läsionstyp nach Bocksch, n (%)		
Fokal	14 (18%)	9 (17%)
Polyfokal	23 (30%)	16 (30%)
Diffus	25 (33%)	24 (45%)
Zunahme Plaquelast, n (%)	entfällt	28 (50%)
Importierte Koronarläsionen, n (%)	29 (37%)	entfällt
V. a. importierte Koronarläsionen, n (%)	20 (26%)	entfällt

#### Tabelle 25: Ergebnisse der intravaskulären Ultraschalluntersuchungen

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%); V. a., Verdacht auf

Im FU1 wurden >50% der Patienten in die Stanford-Klassen III und IV eingestuft. Ein Drittel der Patienten wiesen jeweils polyfokale oder diffuse Verteilungsmuster auf. Bei >60% der Fälle wurden importierte Koronarläsionen diagnostiziert oder vermutet. Im FU2 zeigten fast zwei Drittel der Fälle Stanford-Klassen III und IV. 75% der Patienten zeigten ein polyfokales oder diffuses Verteilungsmuster. In >50% der Untersuchungen kam es zu einer Zunahme der Plaquelast.

#### 3.5.5 Histologische Untersuchungen der terminalen Strombahn

Die Befunde der histologischen Untersuchungen sind in der **Tabelle 26** widergegeben. Vier Wochen nach HTx (FU1) zeigten ein Drittel der Patienten milde akute zelluläre Rejektionen (Grade 01A–2) und drei Patienten (4%) moderate zelluläre Abstoßungen (Grade 3A–3B). Endothelzellveränderungen waren ausschließlich nicht-stenosierend und betrafen 51% der Patienten. Verdickungen der Media zeigten in 37% der Fälle ein nicht-stenosierendes und in 40% der Untersuchungen ein stenosierendes Muster. Der Quilty wurde bei 12% der Patienten diagnostiziert. Über 80% der Biopsieproben zeigten Herzmuskelzellen mit gering- oder mittelgradiger Hypertrophie und Kaliberunterschieden der Zellkörper. Größenunterschiede der Kardiomyozyten betrafen 42% der Gewebeproben.

Im FU2 fanden sich bei 10 Patienten (19%) zelluläre Infiltrate gemäß der ISHLT, davon wurde eine Probe als moderate Rejektion eingestuft. Die Inzidenz endothelialer Veränderungen betrug 15% (8/52), die Prävalenz 42%. 59% der Patienten zeigten hinsichtlich der endothelialen Veränderungen einen stationären Befund und 26% einen regredienten Befund. Die Veränderungen der Media wurden in 27% der Fälle als nicht-stenosierend und in 62% der Fälle als stenosierend bewertet. Dabei betrug die Inzidenz nicht-stenosierender Mediaveränderungen 8% (4/52) und die Inzidenz stenosierender Mediaveränderungen 31% (16/52). Fast 40% der Patienten zeigten eine Progression der medialen Veränderungen und 14% eine Regression. Dabei zeigte sich eine Befundprogredienz bei 77% (10/13) der Patienten, die im 1. Follow up eine normale Mediaveränderungen zeigten (p >0,05). Der Quilty trat mit einer Frequenz von 14% der untersuchten Biopsien auf. Die Herzmuskelzellen aller Proben zeigten Hypertrophiezeichen und auch fast alle Biopsien zeigten Kaliberunterschiede der Kardiomyozyten. Größenunterschiede der Herzmuskelzellkerne waren in 45% der Proben präsent.

Parameter	Follow up 1	Follow up 2
	n=77	n=52
Akute zelluläre Abstoßung, n (%)		
01A <sup>1</sup> -2	26 (34%)	9 (17%)
3A-3B	3 (4%)	1 (2%)
Endothelzellen prominent, n (%)	39 (51%)	22 (42%)
Progression	Entfällt	8 (15%)
Regression	Entfällt	13 (26%)
Mediaverdickung, n (%)		
Nicht-stenosierend	28 (37%)	14 (27%)
Stenosierend	30 (40%)	32 (62%)
Progression	Entfällt	20 (39%)
Regression	Entfällt	7 (14%)
Quilty, n (%)		
Nicht-invasiv	6 (8%)	4 (8%)
Invasiv	3 (4%)	3 (6%)
Hypertrophie Herzmuskelzellen, n (%)		
Geringgradig	36 (47%)	25 (49%)
Mittelgradig	29 (38%)	26 (51%)
Kaliberunterschiede Herzmuskelzellen, n (%)		
Geringgradig	13 (17%)	6 (12%)
Mittelgradig	16 (21%)	21 (41%)
Schwer	34 (45%)	23 (45%)
Größenunterschiede Herzmuskelzellkerne, n (%)		
Geringgradig	28 (37%)	21 (43%)
Mittelgradig	4 (5%)	1 (2%)

#### Tabelle 26: Ergebnisse der histologischen Untersuchungen

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%); <sup>1</sup>ergänzt durch Prof. Dr. s. c. med. R. Meyer, Arbeitsbereich Herzpathologie des DHZB

Im FU1 war die Inzidenz moderater zellulärer Abstoßungen (4%) und des Quilty-Phänomens (12%) gering. Nichtstenosierende Endothelzell- bzw. Mediaverdickungen betrafen 51% bzw. 37% der Patienten. 40% der Biopsien zeigten eine stenosierende Mikrovaskulopathie. Über 80% der Proben zeigten Herzmuskelzellen mit gering- oder mittelgradiger Hypertrophie. 42% wiesen Größenunterschiede der Kardiomyozyten auf. Im FU2 wurde nur eine Probe als moderate Rejektion eingestuft. Die Inzidenz endothelialer Veränderungen betrug 15% und die Prävalenz 42%. 26% der Patienten zeigten einen regredienten Befund endothelialer Veränderungen. Die Prävalenz der stenosierenden Mikrovaskulopathie betrug 62%, ihre Inzidenz 31%. Fast 40% der Patienten zeigten eine Progression medialer Veränderungen und 14% eine Regression, unabhängig vom Vorbefund. 14% der Biopsien wiesen ein Quilty-Phänomen auf. Alle Proben zeigten eine Herzmuskelzellhypertrophie und fast alle Biopsien Kaliberunterschiede der Kardiomyozyten.

#### 3.5.6 Histomorphometrische Untersuchungen

Die Ergebnisse der Messungen des endomyokardialen Bindegewebes sind in **Tabelle 27** abgebildet. Der Anteil des Bindegewebes je Fläche ( $\mu$ m<sup>2</sup>) betrug nach 4 Wochen Transplantationsdauer (FU1) im Mittel 7,8%. Dabei zeigten 39% der Patienten einen bindegewebigen Anteil von >7%. Das Narbengewebe machte fast 30% der untersuchten Gewebeflächen aus.

Ein Jahr nach HTx (FU2) zeigte sich ein mittlerer Bindegewebsanteil von 8,5% und über die Hälfte der Gewebeproben wiesen einen bindegewebigen Anteil von >7% auf. Der mittlere Narbenanteil belief sich auf 32,6%.

#### Tabelle 27: Ergebnisse der histomorphometrischen Untersuchungen

Parameter	Follow up 1	Follow up 2
	n=72	n=52
Bindegewebe gesamt, %	7,8±0,5	8,5±0,7
Bindegewebe >7%, n (%)	28 (39%)	28 (54%)
Fibrose gesamt, %	4,8±0,3	4,0±0,2
Narbengewebe, %	27,4±1,5	32,6±1,8

Daten angegeben als Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes oder Anzahl Patienten n (%) Im FU1 betrug der Anteil des Narbengewebes fast 30%. Fast 40% der Patienten zeigten einen bindegewebigen Anteil von >7%. Im FU2 zeigten >50% der Gewebeproben einen bindegewebigen Anteil von >7%. Der mittlere Narbenanteil betrug 32,6%.

#### 3.5.7 Molekularbiologische Untersuchungen viraler Genome

Die detektierten viralen Genome in den Biopsie- und Blutproben der Patienten sind in der **Tabelle 28** gegenübergestellt. Entero- und Adenoviren sowie HSV2 wurden weder im FU1 (4 Wochen nach HTx) noch im FU2 (ein Jahr nach HTx) nachgewiesen. Über die Hälfte der untersuchten Biopsien zeigten im FU1 mindestens ein virales Genom, davon waren 39% Einfach-, 17% Doppel und 5% Tripelinfektionen. Die führenden viralen Agenzien bei den Einfachinfektionen waren EBV (47%) und PVB19 (37%). Die myokardialen Doppelinfektionen bestanden in der Mehrzahl der Fälle aus der Kombination von EBV + PVB19 (31%) bzw. EBV + HHV6 (38%). Bei allen Tripelinfektionen (n=4) wurden EBV + PVB19 + HHV6 nachgewiesen. Die mittlere Kopienanzahl von PVB19 betrug  $822\pm343/\mu$ l. In den Blutproben des FU1 zeigten 21 (27%) Patienten eine Einfach-, vier (5%) Patienten eine Doppel- und ein (1%) Patient eine Tripelinfektion. Hier war EBV mit 71% der Fälle das führende monovirale Agens, die Doppelinfektionen bestanden zu gleichen Teilen aus CMV + HHV6 bzw. EBV + CMV und die Tripelinfektion setzte sich aus EBV + HHV6 + CMV zusammen.

Im FU2 wiesen 28% der Biopsieproben eine Einfach-, 24% eine Doppel- und 11% eine Tripelinfektion auf. Bei den Einfachinfektionen waren wiederum EBV (47%) und PVB19 (40%) die führenden viralen Genome und stellten zusammen den Hauptteil (62%) der Doppelinfektionen dar. Alle Tripelinfektionen (n=6) wiesen EBV und PVB19 auf, wobei die Hälfte der Fälle als drittes Agens HHV6 zeigte und CMV (n=2) bzw. HSV1 (n=1) in der anderen Hälfte der Fälle nachweisbar waren. Die mittlere Kopienanzahl von PVB19 betrug 712 $\pm$ 193/µl. In den Blutproben des FU2 dominierte bei den Einfachinfektionen (35% der Fälle) EBV mit einer Frequenz von 95%. Doppelinfektionen zeigten vier Patienten, davon hauptsächlich eine Kombination aus EBV + CMV (75%). Die nachgewiesene Tripelinfektion bestand aus EBV + PVB19 + HHV6.

Auf die Berechnung der Sensitivität und Spezifität des bioptischen und serologischen Nachweises viraler Agenzien wurde aufgrund der evident diskrepanten Ergebnisse verzichtet.

Parameter	Follow up 1	Follow up 1	Follow up 2	Follow up 2
	Biopsie	Blut	Biopsie	Blut
	n=78	n=78	n=54	n=54
Einfachinfektion, n (%)	30 (39%)	21 (27%)	15 (28%)	19 (35%)
CMV	1 (3%)	4 (19%)	-	-
EBV	14 (47%)	15 (71%)	7 (47%)	18 (95%)
PVB19	11 (37%)	-	6 (40%)	-
HHV6	4 (13%)	2 (10%)	2 (13%)	1 (5%)
Doppelinfektion, n (%)	13 (17%)	4 (5%)	13 (24%)	4 (7%)
CMV + HHV6	1 (8%)	2 (50%)	1 (8%)	-
EBV + CMV	1 (8%)	2 (50%)	-	3 (75%)
EBV + PVB19	4 (31%)	-	8 (62%)	-
EBV + HHV6	5 (38%)	-	2 (15%)	1 (25%)
HHV6 + PVB19	2 (15%)	-	2 (15%)	-
Tripelinfektion, n (%)	4 (5%)	1 (1%)	6 (11%)	1 (2%)
EBV + PVB19 + HHV6	4 (100%)	-	3 (50%)	1 (100%)
EBV + HHV6 + CMV	-	1 (100%)	-	-
EBV + PVB19 + CMV		-	2 (30%)	-
EBV + PVB19 + HSV1	_	_	1 (20%)	_

Tabelle 28:	Ergebnisse der molekularbiologische Untersuchungen viraler Genome

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%); CMV, humanes Zytomegalievirus; EBV, Epstein-Barr Virus; HHV6, Humanes Herpes Virus 6 und 8; HSV1, Herpes Simplex Virus 1; PVB19, Parvovirus B19

Entero-, Adenoviren und HSV2 wurden in keiner Biopsie nachgewiesen. Über 50% der Biopsien zeigten im FU1 mindestens ein virales Genom. Die häufigsten Viren waren EBV, PVB19 und HHV6. CMV wurde nur serologisch detektiert. Im FU2 zeigten >60% Biopsien einen positiven Virusnachweis mit Zunahme der Doppel- und Tripelinfektion von 17% auf 24% bzw. 5% auf 11%: Auch hier waren EBV und PVB19 die führenden viralen Genome und CMV wurde erstmalig bioptisch nachgewiesen. Zu beiden Untersuchungszeitpunkten spiegelten die korrespondierenden Blutproben weder in Typisierung noch Frequenz den viralen Befall des Myokards wider.

#### 3.5.8 Zytoimmunologisches Monitoring

Gemäß der als Ausdruck der Immunaktivierung (**s. Kapitel 3.3.4**) definierten Konstellationen fanden sich in keiner Untersuchung ein Anstieg des CD4:8-Verhältnisses auf >2,5. Im FU1 (4 Wochen nach HTx) zeigten 36 (47%) Patienten und im FU2 (ein Jahr nach HTx) 31 (56%) der Patienten einen Anstieg der aktivierten Lymphozyten auf >10%. Einen Anstieg des Transferrinrezeptors auf >5 % wiesen fast alle Patienten im FU1 (99%) und FU2 (98%) auf. 70% der untersuchten Fälle zeigten eine nominale Zunahme der DR+ Monozyten im FU2 im Vergleich zur Voruntersuchung.

#### 3.5.9 Lipidstatus

Die Befunde der Lipiduntersuchungen sind in **Tabelle 29** abgebildet. Alle Patienten wiesen sowohl im FU1 (4 Wochen nach HTx) als auch im FU2 (ein Jahr nach HTx) hohe Gesamtcholesterin- (231±6 bzw. 232±7 mg/dl), LDL-Cholesterin- (132±5 bzw. 144±7 mg/dl) und Triglyzeridwerte auf (180±11 bzw. 197±14 mg/dl). Dem gegenüber standen allerdings auch hohe HDL-Cholesterinwerte (71±3 bzw. 70±3 mg/dl). Der Lp (a)-Spiegel belief sich in beiden Nachuntersuchungen auf im Mittel um 30 mg/dl.

#### Tabelle 29: Ergebnisse der Lipiduntersuchungen

Parameter	Follow up 1	Follow up 2
	n=77	n=55
Gesamtcholesterin, mg/dl	231±6	232±7
LDL-Cholesterin, mg/dl	132±5	144±7
HDL-Cholesterin, mg/dl	71±3	70±3
Triglyzeride, mg/dl	180±11	197±14
Lipoprotein (a), mg/dl	33±5	35±6

Daten angegeben als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes *Alle Patienten wiesen im FU1 und FU2 hohe Lipidwerte auf.* 

#### 3.5.10 Thrombozytenaggregationstests und Thrombelastogramme

In den Thrombozytenaggregationstests (**Tabelle 30**) zeigten die Patienten sowohl im FU1 (4 Wochen nach HTx) als auch im FU2 (ein Jahr nach HTx) für die getesteten Substanzen im Mittel Werte im Referenzbereich (70–100%). Gleiches war für die Maximum Clot Firmness (MCF, Referenzbereich 53–74mm) und die Maximum Clot Elasticity (MCE, Referenzbereich 50–150) darstellbar. Die Coagulation Time (CT, Referenzbereich <190s) war zu beiden Untersuchungszeitpunkten mit 563±13s bzw. 576±23s verlängert. Dieses zeigte sich ebenso für die Clot Formation Time (CFT, Referenzbereich <110s) mit 176±8s im FU1 und mit 193±12s im FU2.

Parameter	Follow up 1	Follow up 2
	n=76	n=50
Thrombozytenaggregationstest		
ADP, %	76±2	70±3
Collagen, %	81±1	82±2
Epinephrin, %	74±3	71±3
Arachidon, %	71±3	82±2
Thrombelastogramm		
CT, s	563±13	576±23
CFT, s	176±8	193±12
MCF, mm	58±1	52±2
MCE, s	149±7	116±6

### Tabelle 30:Ergebnisse der Thrombozytenaggregationstests und<br/>Thrombelastogramme

Daten angegeben als Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; ADP, Adenosin-Diphosphat; Arachidon, Arachidonsäure; CFT, Clot Formation Time (Gerinnselbildungszeit bis 20 mm Amplitude); CT, Coagulation Time (Zeit bis zum Beginn des Gerinnungsprozesses); MCE, Maximum Clot Elasticity (Scherenelastizität des Blutgerinnsels); MCF, Maximum Clot Firmness (maximale Amplitude des Thrombelastogramms)

Im FU1 und FU2 lagen die Mittelwerte der im Thrombozytenaggregationstest geprüften Substanzen im Referenzbereich (70–100%). Das gleiche Ergebnis fand sich MCF und MCE. Die CT und CFT waren in beiden FU verlängert.

### 3.5.11 Akute–Phasen Proteine

Bis auf das CRP (**Tabelle 31**) waren in beiden Nachuntersuchungen sowohl Fibrinogen (503±15 bzw. 429±11 mg/dl) als auch das Antithrombin III (139±2 bzw. 129±2 mg/dl) im Mittel erhöht.

Tabelle 31:	Fraebnisse	der Akute-	-Phasen	Proteine
Tabelle JT.	LIGEDHISSE		FildSell	FIOLEINE

Parameter	Follow up 1	Follow up 2
	n=78	n=56
CRP, mg/dl	1,5±0,3	0,7±0,2
Fibrinogen, mg/dl	503±15	429±11
AT III, mg/dl	139±2	129±2

Daten angegeben als Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; AT III, Antithrombin III DAS CRP lag im Mittel bei beiden FU im Referenzbereich, während Fibrinogen und AT III erhöht waren.

### 3.5.12 NT-pro-BNP und CMV-pp65

Die Werte des NT-pro-BNP beliefen sich im FU1 (4 Wochen nach HTx) auf im Mittel 4.519±964 ng/ml und im FU2 (ein Jahr nach HTx) auf 1.687±410 ng/ml.

Der serologische CMV–pp65 Nachweis war im FU1 bei 11 (14%) Patienten positiv und im FU2 bei zwei (4%) Patienten positiv.

#### 3.5.13 Spiroergometrie, klinischer Status und Medikation

Bei normalem Verhältnis von forcierter Einsekundenkapazität zu inspiratorischer Vitalkapazität zeigten die Patienten in den Spiroergometrieuntersuchungen im FU1 (4 Wochen nach HTx) eine maximale Sauerstoffaufnahme (VO<sub>2</sub>max) von im Mittel 16,6±0,9 ml/min/kg KG mit einer Steigung (V-Slope) von  $33\pm1$ . Im FU2 (ein Jahr nach HTx) lag die mittlere VO<sub>2</sub>max bei 17,4±0,8 ml/min/kg KG und der V-Slope bei 30±1.

Über zwei Drittel der Patienten beschrieben im FU1 und FU2 ein sehr gutes oder gutes subjektives Befinden (**Tabelle 32**). 88% der Fälle wurden im FU1 und alle im FU2 in die NYHA-Klassen I und II eingestuft. Die Frequenz von Dyspnoe bei Belastung und subjektiv empfundenen Palpitationen betrug zu beiden Untersuchungszeitpunkten <15%. Periphere Ödeme traten im FU1 in 26% der Fälle und im FU2 nur noch in 7% der Fälle auf. Angina pectoris wurde von den Patienten zu keiner Nachuntersuchung beschrieben.

Parameter	Follow up 1	Follow up 2
	n=78	n=56
Subjektives Befinden, n (%)		
Sehr gut	12 (16%)	20 (35%)
Gut	51 (66%)	30 (53%)
Mäßig	13 (17%)	5 (11%)
Schlecht	2 (1%)	1 (2%)
NYHA-Klasse I und II, n (%)	68 (88%)	56 (100%)
Dyspnoe bei Belastung, n (%)	9 (12%)	5 (9%)
Angina pectoris, n (%)	-	-
Palpitationen, n (%)	4 (5%)	1 (2%)
Periphere Ödeme, n (%)	20 (26%)	4 (7%)

#### Tabelle 32: Ergebnisse der klinischen Untersuchungen

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%); NYHA, New York Heart Association

82% der Patienten beschrieben im FU1 und 88% im FU2 ein sehr gutes oder gutes subjektives Befinden. Fast 90% der Fälle wurden im FU1 und alle im FU2 in die NYHA-Klassen I und II eingestuft. Dyspnoe bei Belastung und Palpitationen traten selten auf, periphere Ödeme zeigten eine abnehmende Frequenz von 26% auf 7%. Zu keinem Untersuchungszeitpunkt beschrieben die Patienten eine Angina pectoris Symptomatik. Die Angaben zu der immunsuppressiven und nicht-immunsuppressiven Therapie sind in der **Tabelle 33** aufgeführt. Die Mehrzahl der Patienten (97%) erhielt im FU1 (4 Wochen nach HTx) und FU2 (ein Jahr nach HTx) Cyclosporin A und jeweils ca. die Hälfte der Patienten dazu Mycophenolat Mofetil oder Everolimus. Alle Patienten erhielten als dritten Baustein der Tripeltherapie Prednisolon.

Die nicht-immunsuppressive Therapie umfasste die Einnahme von Statinen (FU1 32%, FU2 53%), Diuretika (FU1 76%, FU2 61%), Betablocker (FU1 11%, FU2 30%) und ACE-Hemmer (FU1 75%, FU2 72%).

Parameter	Follow up 1	Follow up 2
	n=78	n=56
Immunsuppression, n (%)		
Cyclosporin A	76 (97%)	54 (97%)
Tacrolimus	2 (3%)	2 (3%)
Mycophenolat Mofetil	46 (58%)	30 (53%)
Everolimus	32 (42%)	26 (46%)
Prednisolon	78 (100%)	56 (100%)
Nicht-immunsuppressive Therapie, n (%)		
Statin	24 (32%)	30 (53%)
Diuretikum	58 (76%)	35 (61%)
Betablocker	8 (11%)	17 (30%)
ACE-Hemmer	57 (75%)	41 (72%)

#### Tabelle 33: Immunsuppressive und nicht-immunsuppressive Therapie

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%); ACE-Hemmer, Angiotensin-Converting-Enzym-Hemmer Fast alle Patienten erhielten im FU1 und FU2 Cyclosporin A, jeweils zur Hälfte in Kombination mit Mycophenolat Mofetil oder Everolimus. Alle Patienten standen unter einer kontinuierlichen Cortisontherapie. Die Frequenz der Statingabe betrug im FU1 32% und im FU2 52%, zwei Drittel der Patienten standen unter einer Diuretika- bzw. ACE-Hemmermedikation und ein Drittel unter einer Betablockertherapie.

## 3.6 Funktionelle Bedeutung der bioptischen Befunde der terminalen Strombahn

Die korrespondierenden Ergebnisse der Dopplerflussgeschwindigkeitsmessungen und morphologischen Veränderungen der terminalen Strombahn im 1. Follow up (4 Wochen nach HTx) sind in der **Tabelle 34** dargestellt. Die Endothelfunktion wurde bei Patienten mit stenosierenden Mediaveränderungen (72%) häufiger als gut bewertet im Vergleich zu Patienten ohne stenosierende Mediaveränderungen (39%, p=0,038). Alle anderen untersuchten Parameter der sog. Koronarfunktion waren nicht mit dem Auftreten bioptischer Blutgefäßveränderungen assoziiert.

Parameter	FU1 Biopsie	Endothel	Endothel		Р
		normal	prominent		
FU1 Dopplerflussme	ssungen	n=34	n=39		
Basaler Fluss, cm/s		24±1	22±1		ns
Fluss nach Nitroglyze	erin, cm/s	17±1	17±1		ns
Endothelfunktion gu	t, n (%)	20 (56%)	23 (61%)		ns
CFR		2,7±0,1	2,8±0,1		ns
CFR normal, n (%)		22 (63%)	26 (67%)		ns
Parameter	FU1 Biopsie	Media	Media		Р
		normal/ $\varnothing$ stenos.	stenosierend		
FU1 Dopplerflussme	ssungen	n=45	n=29		
Basaler Fluss, cm/s		24±1	22±1		ns
Fluss nach Nitroglyze	erin, cm/s	17±1	17±1		ns
Endothelfunktion gu	t, n (%)	22 (49%)	21 (72%)		0,038
CFR		2,7±0,1	2,8±0,1		ns
CFR normal, n (%)		30 (67%)	18 (62%)		ns
Parameter	FU1 Biopsie	Media	Media	Media	Р
		normal	$\varnothing$ stenosierend	stenosierend	
FU1 Dopplerflussme	ssungen	n=18	n=27	n=29	
Basaler Fluss, cm/s		23±1	25±1	22±1	ns
Fluss nach Nitroglyze	erin, cm/s	16±2	18±2	17±1	ns
Endothelfunktion gu	t, n (%)	10 (56%)	12 (44%)	21 (72%)	ns
CFR		2,8±0,1	2,7±0,2	2,8±0,2	ns
CFR normal, n (%)		13 (72%)	17 (63%)	18 (62%)	ns

### Tabelle 34:Ergebnisse der Dopplerflussgeschwindigkeitsmessungen beibioptischen Veränderungen der terminalen Strombahn im 1. Follow up

Daten angegeben als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes oder Anzahl Patienten n (%);  $\emptyset$  stenos., nicht ( $\emptyset$ ) stenosierend; CFR, koronare Flussgeschwindigkeitsreserve; Fluss, Flussgeschwindigkeit; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); ns, nicht signifikant

Im FU1 waren bis auf die Endothelfunktion, die bei Patienten mit stenosierenden Mediaveränderungen häufiger als bei Patienten ohne als gut bewertet wurde alle andere untersuchten Parameter nicht mit dem Auftreten bioptischer Blutgefäßveränderungen assoziiert. Es fand sich keine Korrelation zwischen Dopplerflussgeschwindigkeitsmessungen und zeitgleich diagnostizierten bioptischen Veränderungen im 2. Follow up (ein Jahr nach HTx, **Tabelle 35**), auch nicht unter Berücksichtigung von Befundprogression oder Regression der Veränderungen der Media.

Parameter	FU2 Biopsie	Endothel	Endothel		Р
		normal	prominent		
FU2 Dopplerflussme	ssungen	n=29	n=21		
Basaler Fluss, cm/s		26±2	23±1		ns
Fluss nach Nitroglyz	erin, cm/s	17±1	16±1		ns
Endothelfunktion gu	t, n (%)	10 (35%)	11 (58%)		ns
CFR		2,7±0,1	3,1±0,2		ns
CFR normal, n (%)		16 (55%)	15 (71%)		ns
Parameter	FU2 Biopsie	Media	Media		Р
		normal/ $\varnothing$ stenos.	stenosierend		
FU2 Dopplerflussme	ssungen	n=20	n=30		
Basaler Fluss, cm/s		22±1	26±2		ns
Fluss nach Nitroglyz	erin, cm/s	17±1	16±1		ns
Endothelfunktion gu	t, n (%)	9 (45%)	12 (43%)		ns
CFR		2,9±0,2	2,9±0,2		ns
CFR normal, n (%)		12 (60%)	19 (63%)		ns
Parameter	FU2 Biopsie	Media	Media	Media	Р
		normal	$\varnothing$ stenosierend	stenosierend	
FU2 Dopplerflussme	ssungen	n=6	n=14	n=30	
Basaler Fluss, cm/s		23±2	22±2	26±2	ns
Fluss nach Nitroglyz	erin, cm/s	18±2	16±2	16±1	ns
Endothelfunktion gu	t, n (%)	3 (50%)	6 (43%)	12 (43%)	ns
CFR		2,6±0,3	3,1±0,2	2,9±0,2	ns
CFR normal, n (%)		2 (33%)	10 (71%)	19 (63%)	ns

Tabelle 35:Ergebnisse der Dopplerflussgeschwindigkeitsmessungen beibioptischen Veränderungen der terminalen Strombahn im 2. Follow up

Daten angegeben als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes oder Anzahl Patienten n (%);  $\emptyset$  stenos., nicht ( $\emptyset$ ) stenosierend; CFR, koronare Flussgeschwindigkeitsreserve; Fluss, Flussgeschwindigkeit; FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); ns, nicht signifikant

Im FU2 zeigten sich keine funktionellen Korrelate zu zeitgleich gesicherten bioptischen Blutgefäßveränderungen.

Anschließend wurden die Beziehungen zwischen mikrovaskulären Veränderungen im 1. Follow up mit den Ergebnissen der Dopplerflussgeschwindigkeitsmessungen im 2. Follow up untersucht. Patienten, die im FU1 stenosierende Mediaveränderungen aufwiesen zeigten im FU2 häufiger eine gute Endothelfunktion (68%) als Patienten ohne stenosierende Mediaveränderungen (31%, p=0,011; **Tabelle 36**). Diese Konstellation blieb auch im Dreigruppenvergleich signifikant (Media normal 53%, nicht-stenosierend 12%, stenosierend verdickt 68%, p=0.002). Alle anderen Parameter der sog. Koronarfunktion waren nicht mit vorangehenden bioptischen Blutgefäßveränderungen assoziiert.

Tabelle 36:	Bioptische Veränderungen der terminalen Strombahn im 1. Follow up
	und Ergebnisse der Dopplerflussgeschwindigkeitsmessungen im 2.
	Follow up

Parameter	FU1 Biopsie	Endothel	Endothel		Р
		normal	prominent		
FU2 Dopplerflussmes	ssungen	n=26	n=27		
Basaler Fluss, cm/s		27±2	23±1		ns
Fluss nach Nitroglyze	erin, cm/s	16±1	17±1		ns
Endothelfunktion gut	t, n (%)	10 (40%)	13 (50%)		ns
CFR		2,8±0,8	2,9±0,8		ns
CFR normal, n (%)		16 (62%)	16 (59%)		ns
Parameter	FU1 Biopsie	Media	Media		Р
		normal/ $\varnothing$ stenos.	stenosierend		
FU2 Dopplerflussmes	ssungen	n=33	n=20		
Basaler Fluss, cm/s		26±2	22±1		ns
Fluss nach Nitroglyze	erin, cm/s	16±1	16±1		ns
Endothelfunktion gut	t, n (%)	10 (31%)	13 (68%)		0,011
CFR		3,0±0,1	2,7±0,2		ns
CFR normal, n (%)		22 (67%)	10 (50%)		ns
Parameter	FU1 Biopsie	Media	Media	Media	Р
		normal	$\varnothing$ stenosierend	stenosierend	
FU2 Dopplerflussmes	ssungen	n=15	n=18	n=20	
Basaler Fluss, cm/s		26±3	26±3	22±1	ns
Fluss nach Nitroglyze	erin, cm/s	15±1	17±1	16±1	ns
Endothelfunktion gut	t, n (%)	8 (53%)	2 (12%)	13 (68%)	0,002
CFR		2,9±0,2	3,0±0,2	2,7±0,2	ns
CFR normal, n (%)		10 (67%)	12 (67%)	10 (50%)	ns

Daten angegeben als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes oder Anzahl Patienten n (%);  $\emptyset$  stenos., nicht ( $\emptyset$ ) stenosierend; CFR, koronare Flussgeschwindigkeitsreserve; Fluss, Flussgeschwindigkeit; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); ns, nicht signifikant

Patienten mit stenosierender Mikrovaskulopathie im 1. FU wiesen im darauffolgenden FU2 häufiger eine gute Endothelfunktion auf als Patienten ohne. Alle anderen untersuchten Parameter der sog. Koronarfunktion waren nicht mit dem vorangehenden Nachweis bioptischer Blutgefäßveränderungen assoziiert. Nun wurde geprüft, ob koronare Funktionsteste bereits 4 Wochen nach HTx auf bestimmte Veränderungen der terminalen Strombahn in der darauffolgenden Jahresuntersuchung hinweisen (**Tabelle 37**). Keiner der hier evaluierten koronaren Funktionsparameter konnte jedoch als Indikator für bestimmte morphologische Befunde der terminalen Strombahn herausgearbeitet werden, auch nicht unter Berücksichtigung von Befundprogression oder Regression der Veränderungen der Media.

# Tabelle 37:Ergebnisse der Dopplerflussgeschwindigkeitsmessungen im 1. Follow<br/>up und bioptische Veränderungen der terminalen Strombahn im 2.<br/>Follow up

Parameter	FU2 Biopsie	Endothel	Endothel		Р
		normal	prominent		
FU1 Dopplerflussme	ssungen	n=29	n=21		
Basaler Fluss, cm/s		24±1	22±2		ns
Fluss nach Nitroglyze	erin, cm/s	19±2	16±1		ns
Endothelfunktion gu	t, n (%)	16 (53%)	12 (60%)		ns
CFR		2,7±0,1	2,9±0,1		ns
CFR normal, n (%)		18 (62%)	15 (71%)		ns
Parameter	FU2 Biopsie	Media	Media		Р
		normal/ $\varnothing$ stenos.	stenosierend		
FU1 Dopplerflussme	ssungen	n=18	n=32		
Basaler Fluss, cm/s		21±1	25±1		ns
Fluss nach Nitroglyze	erin, cm/s	16±2	19±2		ns
Endothelfunktion gu	t, n (%)	10 (53%)	18 (58%)		ns
CFR		2,7±0,1	2,8±0,1		ns
CFR normal, n (%)		14 (74%)	19 (61%)		ns
Parameter	FU2 Biopsie	Media	Media	Media	Р
		normal	$\varnothing$ stenosierend	stenosierend	
FU1 Dopplerflussme	ssungen	n=6	n=13	n=31	
Basaler Fluss, cm/s		23±1	21±2	25±1	ns
Fluss nach Nitroglyze	erin, cm/s	14±4	16±2	19±2	ns
Endothelfunktion gu	t, n (%)	5 (50%)	7 (54%)	18 (58%)	ns
CFR		2,7±0,3	2,7±0,2	2,8±0,1	ns
CFR normal, n (%)		4 (67%)	10 (77%)	19 (61%)	ns

Daten angegeben als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes oder Anzahl Patienten n (%);  $\emptyset$  stenos., nicht ( $\emptyset$ ) stenosierend; CFR, koronare Flussgeschwindigkeitsreserve; Fluss, Flussgeschwindigkeit; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); ns, nicht signifikant

Keiner der im FU1 evaluierten koronaren Funktionsparameter konnte als Indikator für die morphologischen Befunde der terminalen Strombahn im FU2 herausgearbeitet werden. Weder die klinischen noch spiroergometrischen Parameter zeigten signifikant unterschiedliche Ergebnisseim Hinblick auf die bioptisch nachgewiesenen mikrovaskulären Veränderungen.

### 3.7 Bedeutung der bioptischen Befunde der terminalen Strombahn für das endomyokardiale Remodelling

Die Ergebnisse bezüglich endomyokardialer Architekturveränderungen bei Bestehen von Endothelzellveränderungen im 1. Follow up (4 Wochen nach HTx) sind in der **Tabelle 38** dargestellt. Patienten mit prominenten Endothelzellen (51%) zeigten häufiger einen bindegewebigen Anteil von >7% in ihren Biopsieproben als Patienten mit morphologisch normalen Endothelzellen (28%, p=0,036). Darüber hinaus wiesen Patienten mit prominenten Endothelzellen häufiger hypertrophierte Herzmuskelzellen auf als Patienten mit regelrechter Endothelzellmorphologie (41% vs. 16%, p=0,016). Die Gesamtmenge des Bindegewebes, der selektive Fibrose- und Narbenanteil sowie die Frequenz von Kaliberunterschieden der Herzmuskelzellen oder Größenunterschiede derer Zellkerne unterschieden sich nicht signifikant zwischen Patienten mit und ohne Endothelzellveränderungen. Bezüglich der immunhistochemischen Untersuchungen zeigten Patienten mit und ohne Endothelzellveränderungen 4 Wochen nach HTx keine Differenzen in der Reaktivität auf die

eingesetzten Marker.

Parameter	Endothel	Endothel	Р
	normal	prominent	
	n=36	n=35	
Bindegewebe gesamt, %	7,2±0,7	8,7±0,7	ns
Bindegewebe >7%, n (%)	10 (28%)	18 (51%)	0,036
Fibrose, %	4,5±0,4	5,2±0,5	ns
Fibrose >7%, n (%)	4 (11%)	5 (14%)	ns
Narbengewebe, %	25,9±1,9	29,2±2,2	ns
Hypertrophie HMZ, n (%)	6 (16%)	16 (41%)	0,016
Kaliberunterschiede HMZ, n (%)	31 (86%)	31 (80%)	ns
Größenunterschiede HMZK, n (%)	14 (39%)	18 (47%)	ns

### Tabelle 38:Endothelzellveränderungen und endomyokardiales Remodelling im 1.Follow up

Daten angegeben als Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes oder Anzahl Patienten n (%); Ø stenos., nicht (Ø) stenosierend; HMZ, Herzmuskelzellen; HMZK, Herzmuskelzellkerne; ns, nicht signifikant

Im FU1 zeigten Patienten mit prominenten Endothelzellen häufiger hypertrophierte Herzmuskelzellen und einen bindegewebigen Anteil von >7% in ihren Biopsieproben. Die weiteren untersuchten Parameter des endomyokardialen Remodellings unterschieden sich nicht signifikant zwischen Patienten mit und ohne Endothelzellveränderungen. **Tabelle 39** stellt die Beziehungen zwischen endomyokardialen Architekturveränderungen und dem Bestehen verschiedener morphologischer Erscheinungsformen der Media im 1. Follow up (4 Wochen nach HTx) dar. Patienten mit einer nicht-stenosierenden (46%) oder stenosierenden Verdickung der Media (73%) wiesen signifikant häufiger prominente Endothelzellen auf als Patienten mit einem Normalbefund (22%, p=0,002). Weder der Anteil des endomyokardialen Bindegewebes noch die Pathologie der Kardiomyozyten oder deren Zellkerne zeigten signifikante Differenzen im Hinblick auf die diagnostizierten Veränderungen der Media.

Parameter	Media	Media	Media	Р
	normal	$\varnothing$ stenosierend	stenosierend	
	n=18	n=28	n=30	
Bindegewebe gesamt, %	7,4±1,2	7,6±0,7	8,5±0,5	ns
Bindegewebe >7%, n (%)	5 (31%)	11 (41%)	12 (42%)	ns
Fibrose, %	4,6±0,6	4,8±0,4	4,9±0,6	ns
Fibrose >7%, n (%)	2 (13%)	2 (7%)	5 (18%)	ns
Narbengewebe, %	26,5±3,2	25,6±2,1	30,0±2,6	ns
Hypertrophie HMZ, n (%)	3 (17%)	10 (36%)	9 (30%)	ns
Kaliberunterschiede HMZ, n (%)	13 (72%)	24 (89%)	25 (83%)	ns
Größenunterschiede HMZK, n (%)	9 (48%)	14 (52%)	9 (31%)	ns
Endothelzellen prominent, n (%)	3 (22%)	12 (46%)	21 (73%)	0,002

### Tabelle 39:Mediaveränderungen und endomyokardiales Remodelling im 1. Followup

Daten angegeben als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes oder Anzahl Patienten n (%);  $\emptyset$  stenos., nicht ( $\emptyset$ ) stenosierend; HMZ, Herzmuskelzellen; HMZK, Herzmuskelzellkerne; ns, nicht signifikant

Im FU1 wiesen Patienten mit nicht-stenosierender oder stenosierender Verdickung der Media häufiger prominente Endothelzellen auf als Patienten mit einem Normalbefund. Die weiteren untersuchten Parameter des endomyokardialen Remodellings zeigten keine signifikanten Unterschiede im Hinblick auf die Pathologie der Media. Bei selektivem Vergleich von Patienten mit und ohne stenosierender Mediaverdickung (**Tabelle 40**) zeigte die statistische Analyse bezüglich der Häufigkeit von Endothelzellveränderungen erneut signifikantes Niveau (73% vs. 37%, p=0,002), während sich die übrigen untersuchten Parameter nicht signifikant in Frequenz oder Ausmaß unterschieden.

Parameter	Media	Media	Р
	normal/ $\varnothing$ stenos.	Stenosierend	
	n=46	n=30	
Bindegewebe gesamt, %	7,5±0,6	8,5±0,9	ns
Bindegewebe >7%, n (%)	16 (37%)	12 (43%)	ns
Fibrose, %	4,7±0,3	4,9±0,6	ns
Fibrose >7%, n (%)	4 (9%)	5 (18%)	ns
Narbengewebe, %	26,0±1,7	30,0±2,6	ns
Hypertrophie HMZ, n (%)	13 (28%)	9 (31%)	ns
Kaliberunterschiede HMZ, n (%)	37 (82%)	25 (83%)	ns
Größenunterschiede HMZK, n (%)	23 (51%)	9 (31%)	ns
Endothelzellen prominent, n (%)	17 (37%)	22 (73%)	0,002

### Tabelle 40:Stenosierende Mediaveränderungen und endomyokardialesRemodelling im 1. Follow up

Daten angegeben als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes oder Anzahl Patienten n (%);  $\emptyset$  stenos., nicht ( $\emptyset$ ) stenosierend; HMZ, Herzmuskelzellen; HMZK, Herzmuskelzellkerne; ns, nicht signifikant

Im FU1 zeigten Patienten mit stenosierender Verdickung der Media häufiger prominente Endothelzellen als Patienten ohne. Die weiteren untersuchten Parameter des endomyokardialen Remodellings waren nicht mit der stenosierenden Mikrovaskulopathie assoziiert. In den immunhistochemischen Untersuchungen 4 Wochen nach HTx zeigten Patienten mit stenosierenden Mediaveränderungen eine signifikant stärkere Reaktivität für Alpha-Aktin (glatte Muskelzellen) als Patienten mit normaler Mediamorphologie oder nicht-stenosierender Mediaverdickung (**Abbildung 15**). Bezüglich der übrigen eingesetzten Marker bestanden keine Reaktivitätsunterschiede.



### Abbildung 15: Immunhistochemische Reaktionsintensität für Alpha-Aktin bei morphologischen Veränderungen der Media im 1. Follow up

(A) Morphologieformen der Media insgesamt, (B) luminal stenosierende und nicht-stenosierende Mediaverdickung Daten angegeben als Mittelwert  $\pm$  95% Konfidenzintervall (CI);  $\emptyset$ , nicht; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); n, Anzahl

Im FU1 zeigten Patienten mit stenosierenden Mediaveränderungen eine stärkere Reaktivität für Alpha-Aktin als Patienten mit normaler Mediamorphologie oder nicht-stenosierender Mediaverdickung. Die Bedeutung mikrovaskulärer Veränderungen für das endomyokardiale Remodelling im 2. Follow up (ein Jahr nach HTx) gibt die **Tabelle 41** wider. Patienten mit prominenten Endothelzellen zeigten signifikant häufiger einen bindegewebigen Anteil von >7% des untersuchten Myokards (71%) als Patienten ohne (43%, p=0,044). Auch der relative Anteil des Narbengewebes war in dieser Gruppe höher (35,4±2,1% vs. 31,0±2,8%), erreichte jedoch nicht statistische Signifikanz (p=0,054). Auf den Vergleich des selektiven Fibrosegehalts >7% wurde aufgrund der kleinen Stichprobengröße (n=2) verzichtet.

Parameter	Endothel	Endothel	Р
	normal	prominent	
	n=30	n=21	
Bindegewebe gesamt, %	8,2±0,9	9,1±0,7	ns
Bindegewebe >7%, n (%)	13 (43%)	15 (71%)	0,044
Fibrose, %	3,8±0,2	4,3±0,3	ns
Narbengewebe, %	31,0±2,8	35,4±2,1	0,054
Hypertrophie HMZ, n (%)	2 (7%)	5 (23%)	ns
Kaliberunterschiede HMZ, n (%)	30 (100%)	20 (95%)	ns
Größenunterschiede HMZK, n (%)	11 (40%)	10 (48%)	ns

### Tabelle 41:Endothelzellveränderungen und endomyokardiales Remodelling im 2.Follow up

Daten angegeben als Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes oder Anzahl Patienten n (%); Ø stenos., nicht (Ø) stenosierend; HMZ, Herzmuskelzellen; HMZK, Herzmuskelzellkerne; ns, nicht signifikant

Im FU2 waren prominente Endothelzellen häufiger mit einem erhöhten (>7%) bindegewebigen Anteil des Myokards assoziiert. Der relative Anteil des Narbengewebes war bei diesen Proben im Trend erhöht (p=0,054).

In **Abbildung 16** ist die immunhistochemische Reaktionsintensität für CD31 (Endothelzellmarker) im 2. Follow up bei Patienten mit unauffälligen Endothelzellen im Vergleich zu Patienten mit prominenten Endothelzellen dargestellt. Letztere zeigten eine signifikant geringere Reaktivität für CD31 (p=0,038). Die weiteren immunhistochemischen Marker Untersuchungen zeigten keine signifikanten Unterschiede in ihrem Reaktionsmuster.



FU2 Endothelzellen

### Abbildung 16: Immunhistochemische Reaktionsintensität für CD31 bei morphologischen Veränderungen der Endothelzellen im 2. Follow up

Daten angegeben als Mittelwert  $\pm$  95% Konfidenzintervall (CI);  $\emptyset$ , nicht; FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); n, Anzahl

Patienten mit prominenten Endothelzellen im FU2 zeigten eine geringere Reaktivität für CD31, die anderen untersuchten immunhistochemischen Marker wiesen dagegen keine signifikanten Unterschiede in ihrem Reaktionsmuster auf. Weder unterschiedliche morphologische Erscheinungsformen der Media (**Tabelle 42**) noch der Tatbestand einer mikrovaskulären luminalen Stenose (**Tabelle 43**) waren im 2. Follow up mit den in den H&E-Färbungen erfassten Parametern des endomyokardialen Remodellings assoziiert.

Parameter	Media	Media	Media	Р
	normal	$\varnothing$ stenosierend	stenosierend	
	n=6	n=14	n=32	
Bindegewebe gesamt, %	5,8±1,4	8,6±1,1	9,0±0,8	ns
Bindegewebe >7%, n (%)	2 (33%)	8 (62%)	18 (56%)	ns
Fibrose, %	3,5±0,5	3,9±0,4	4,1±0,3	ns
Narbengewebe, %	24,5±6,5	32,9±3,2	34,4±2,4	ns
Hypertrophie HMZ, n (%)	2 (33%)	1 (7%)	4 (13%)	ns
Kaliberunterschiede HMZ, n (%)	6 (100%)	12 (93%)	32 (100%)	ns
Größenunterschiede HMZK, n (%)	3 (50%)	3 (21%)	15 (55%)	ns
Endothelzellen prominent, n (%)	1 (17%)	5 (36%)	16 (50%)	ns

### Tabelle 42:Mediaveränderungen und endomyokardiales Remodelling im 2. Followup

Daten angegeben als Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes oder Anzahl Patienten n (%); Ø stenos., nicht (Ø) stenosierend; HMZ, Herzmuskelzellen; HMZK, Herzmuskelzellkerne; ns, nicht signifikant Im FU2 waren unterschiedliche morphologische Erscheinungsformen der Media nicht mit den in den H&E-Färbungen erfassten Parametern des endomyokardialen Remodellings assoziiert.

### Tabelle 43:Stenosierende Mediaveränderungen und endomyokardialesRemodelling im 2. Follow up

Parameter	Media	Media	Р
	normal/ $\varnothing$ stenos.	Stenosierend	
	n=20	n=32	
Bindegewebe gesamt, %	7,7±0,9	9,0±0,8	ns
Bindegewebe >7%, n (%)	10 (53%)	18 (56%)	ns
Fibrose, %	3,8±0,3	4,1±0,3	ns
Narbengewebe, %	30,2±3,0	34,4±2,4	ns
Hypertrophie HMZ, n (%)	3 (15%)	4 (13%)	ns
Kaliberunterschiede HMZ, n (%)	19 (95%)	32 (100%)	ns
Größenunterschiede HMZK, n (%)	6 (31%)	15 (49%)	ns
Endothelzellveränderungen, n (%)	6 (30%)	16 (50%)	ns

Daten angegeben als Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes oder Anzahl Patienten n (%); Ø stenos., nicht (Ø) stenosierend; HMZ, Herzmuskelzellen; HMZK, Herzmuskelzellkerne; ns, nicht signifikant

Im FU2 zeigte die stenosierenden Mikrovaskulopathie keine Assoziation mit den Parametern des endomyokardialen Remodellings.

Dagegen zeigte sich in den immunhistochemischen Untersuchungen des 2. Follow ups (**Abbildung 17A und 17B**), dass Patienten mit einer stenosierenden Mediaverdickung eine signifikant stärkere Reaktionsintensität für Alpha-Aktin aufwiesen als Patienten mit normaler Mediamorphologie oder Patienten mit nicht-stenosierenden Mediaveränderungen.



### Abbildung 17: Immunhistochemische Reaktionsintensität für Alpha-Aktin bei morphologischen Veränderungen der Media im 2. Follow up

(A) Morphologieformen der Media insgesamt, (B) luminal stenosierende und nicht-stenosierende Mediaverdickung Daten angegeben als Mittelwert  $\pm$  95% Konfidenzintervall (CI); Ø, nicht; FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); n, Anzahl

Auch im FU2 war die stenosierende Mikrovaskulopathie mit einer stärkeren Reaktionsintensität für Alpha-Aktin charakterisiert.

In **Abbildung 18** ist die Reaktionsintensität für die immunhistochemischen Marker der vaskulären Rejektion (IgA, IgM, IgG, Komplement C1q und C3c, Fibrinogen) bei Patienten ohne und mit luminal stenosierende Mediaveränderungen dargestellt. Letztere wiesen eine signifikant erhöhte Reaktionsstärke für die Marker der vaskulären Rejektion auf (p=0,025). Signifikante Unterschiede in der Reaktionsstärke für die anderen immunhistochemischen Marker ließen sich nicht darstellen.



FU2 luminale Stenose durch Media

### Abbildung 18: Immunhistochemische Reaktionsintensität für Immunglobulin- und Komplementablagerungen bei morphologischen Veränderungen der Media im 2. Follow up

Daten angegeben als Mittelwert  $\pm$  95% Konfidenzintervall (CI);  $\emptyset$ , nicht; FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); Ig, Immunglobuline; n, Anzahl

Patienten mit luminal stenosierenden Mediaveränderungen wiesen eine erhöhte Reaktionsstärke für die Marker der vaskulären Rejektion auf. Wie in **Kapitel 3.5.5** (**Tabelle 26**) aufgeführt, zeigten fast 40% der Patienten eine Progression und 14% der untersuchten Fälle eine Regression der Mediaveränderungen im 2. Follow up, verglichen mit den Befunden der Erstuntersuchung 4 Wochen nach HTx. Daher wurden auch diese Faktoren in Bezug zu endomyokardialen Architekturveränderungen untersucht. Hier zeigte sich, dass Patienten, die im 2. Follow eine Progredienz der Mediaveränderungen zeigten (**Abbildung 19**), in der Voruntersuchung (4 Wochen nach HTx) eine geringere bioptische Reaktionsintensität für CD68 (Makrophagen) aufwiesen als Patienten, deren Befunde ein Jahr nach HTx stationär blieben (p=0,026). In der detaillierten Analyse zeigte sich, dass es sich hierbei fast ausschließlich um die Patienten mit neu aufgetretener stenosierender Mikrovaskulopathie handelte (p=0,027).



FU2 Progression Mediaverdickung

### Abbildung 19: Immunhistochemische Reaktionsintensität für CD68 im 1. Follow up bei Progredienz der Mediaveränderungen im 2. Follow up

Daten angegeben als Mittelwert  $\pm$  95% Konfidenzintervall (CI);  $\emptyset$ , nicht; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); n, Anzahl

Patienten, die im FU2 progrediente Mediaveränderungen zeigten, wiesen in der Voruntersuchung eine geringere bioptische Reaktionsintensität für CD68 auf als Patienten mit stationären Befunden.

Unter Beachtung der Patienten mit regredienten Mediaveränderungen im 2. Follow zeigte sich bei diesen 4 Wochen nach HTx die höchste Reaktionsintensität für CD34 (Endothelzellmarker), während Patienten mit progredienten Mediaveränderungen die geringste Reaktionsstärke für CD34 aufwiesen (p=0,011, **Abbildung 20A**). Im Gegensatz dazu war die Reaktionsintensität für Alpha-Aktin bei Patienten mit progredienten Mediaveränderungen am stärksten ausgeprägt, während regrediente Mediaveränderungen mit dem schwächsten Reaktionsmuster für Alpha-Aktin assoziiert waren (p=0,032, **Abbildung 20B**).

Bezüglich der weiteren histologischen Parameter des endomyokardialen Remodellings zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Hinblick auf die Dynamik der Mediaveränderungen im 2. Follow up.



### Abbildung 20: Immunhistochemische Reaktionsintensität für CD34 und Alpha-Aktin bei unterschiedlicher Dynamik der Mediaveränderungen im 2. Follow up

(A) Reaktionsintensität für CD34, (B) Reaktionsintensität für Alpha-Aktin; Daten angegeben als Mittelwert  $\pm$  95% Konfidenzintervall (CI);  $\emptyset$ , nicht; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); n, Anzahl

Patienten mit regredienten Mediaveränderungen im FU2 zeigten in der Voruntersuchung die höchste Reaktionsintensität für CD34, während Patienten mit progredienten Mediaveränderungen die geringste Reaktionsstärke für CD34 aufwiesen. Die Reaktionsintensität für Alpha-Aktin war bei progredienten Mediaveränderungen am stärksten ausgeprägt. Um zu prüfen, ob mikrovaskuläre Veränderungen Indikatoren myokardialer Architekturveränderungen im weiteren Verlauf nach HTx darstellen, wurden die mikrovaskulären Befunde 4 Wochen nach HTx mit den Befunden der endomyokardialen Architektur ein Jahr nach HTx verglichen.

Hierbei zeigte sich, dass prominente Endothelzellen früh nach HTx (1. Follow up) nicht mit den histologisch erfassten Architekturveränderungen des Endomyokards im 2. Follow up assoziiert waren (**Tabelle 44**).

Paramet	er FU1	Endothel	Endothel	Р
		normal	prominent	
FU2		n=23	n=28	
Bindege	webe gesamt, %	7,6±0,7	9,3±0,9	ns
Bind	legewebe >7%, n (%)	11 (48%)	17 (61%)	ns
Fibrose,	%	3,8±0,3	4,1±0,2	ns
Narbeng	ewebe, %	32,4±2,8	33,2±2,6	ns
Hypertro	pphie HMZ, n (%)	3 (13%)	4 (14%)	ns
Kaliberu	nterschiede HMZ, n (%)	22 (96%)	28 (100%)	ns
Größenu	nterschiede HMZK, n (%)	11 (48%)	11 (44%)	ns

### Tabelle 44:Endothelzellveränderungen im 1. Follow up und endomyokardialesRemodelling im 2. Follow up

Daten angegeben als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes oder Anzahl Patienten n (%);  $\emptyset$  stenos., nicht ( $\emptyset$ ) stenosierend; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); HMZ, Herzmuskelzellen; HMZK, Herzmuskelzellkerne; ns, nicht signifikant

Endothelveränderungen im FU1 waren nicht mit Architekturveränderungen des Endomyokards im FU2 assoziiert.

Allerdings zeigte sich bei der Analyse der immunhistochemischen Untersuchungen, dass Patienten mit prominenten Endothelzellen 4 Wochen nach HTx eine signifikant stärkere Reaktion für Collagen III (interstitielles Bindegewebe) im 2. Follow up zeigten (**Abbildung 21A**). Im Gegensatz dazu wiesen diese Patienten ein Jahr nach HTx eine geringere Reaktionsintensität für CD20 (B-Zellen) auf (**Abbildung 21B**). Die weiteren immunhistochemischen Parameter zeigten keine statistische Signifikanz.



### Abbildung 21: Immunhistochemische Reaktionsintensität für Collagen III und CD20 im 2. Follow up bei morphologischen Veränderungen der Endothelzellen im 1. Follow up

(A) Reaktionsintensität für Collagen III, (B) Reaktionsintensität für CD20; Daten angegeben als Mittelwert  $\pm$  95% Konfidenzintervall (CI); Ø, nicht; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); n, Anzahl

Patienten mit prominenten Endothelzellen im FU1 zeigten im FU2 eine stärkere Reaktion für Collagen III. Diese Patienten wiesen im FU2 auch eine geringere Reaktionsintensität für CD20.

Die Beziehungen zwischen medialen Veränderungen und darauffolgenden myokardialen Architekturveränderungen bildet **Tabelle 45** ab. Patienten, die 4 Wochen nach HTx nichtstenosierende oder stenosierende Mediaveränderungen aufwiesen, hatten in ihren darauffolgenden Biopsien einen signifikant erhöhten Anteil an endomyokardialem Bindegewebe (9,5 $\pm$ 0,7% vs. 8,9 $\pm$ 1,3% vs. 6,3 $\pm$ 0,8%, p=0,041) und Fibrose (4,6 $\pm$ 0,3% vs. 3,6 $\pm$ 0,3% vs. 3,4 $\pm$ 0,4%, p=0,025). Keine Unterschiede zeigten sich in Bezug auf Hypertrophie oder Kaliberunterschiede der Kardiomyozyten und deren Zellkerne.

Parameter	FU1	Media	Media	Media	Р
		normal	$\varnothing$ stenosierend	stenosierend	
FU2		n=12	n=17	n=22	
Bindegewebe gesam	nt, %	6,3±0,8	8,9±1,3	9,5±0,7	0,041
Bindegewebe >	7%, n (%)	3 (25%)	10 (59%)	15 (68%)	0,050
Fibrose, %		3,4±0,4	3,6±0,3	4,6±0,3	0,025
Narbengewebe, %		30,3±4,1	34,7±3,7	32,8±2,4	ns
Hypertrophie HMZ, r	า (%)	3 (21%)	1 (6%)	3 (14%)	ns
Kaliberunterschiede	HMZ, n (%)	12 (92%)	17 (100%)	22 (100%)	ns
Größenunterschiede	HMZK, n (%)	6 (50%)	8 (49%)	8 (37%)	ns
Endothelzellen prom	inent, n (%)	5 (38%)	6 (35%)	11 (52%)	ns

### Tabelle 45:Mediaveränderungen im 1. Follow up und endomyokardialesRemodelling im 2. Follow up

Daten angegeben als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes oder Anzahl Patienten n (%);  $\emptyset$  stenos., nicht ( $\emptyset$ ) stenosierend; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); HMZ, Herzmuskelzellen; HMZK, Herzmuskelzellkerne; ns, nicht signifikant

Patienten mit nicht-stenosierenden oder stenosierenden Mediaveränderungen im FU1 hatten im darauffolgenden FU2 einen erhöhten Anteil an endomyokardialem Bindegewebe und Fibrose.

Bei Vergleich der Patienten mit stenosierenden Mediaveränderungen mit solchen ohne luminale Stenosierungen im 1. Follow up (**Tabelle 46**) zeigte sich auch hier in der ersten Gruppe ein signifikant erhöhter Bindegewebe- (9,5±0,7% vs. 7,8±0,9%, p=0,036) und Fibroseanteil (4,6±0,3% vs. 3,5±0,2, p=0,007) in den darauffolgenden Biopsieproben, während keine signifikanten Unterschiede bezüglichen der weiteren Parameter des endomyokardialen Remodellings zu verzeichnen waren.

Parameter	FU1	Media	Media	Р
		normal/ $\varnothing$ stenos.	stenosierend	
FU2		n=29	n=22	
Bindegewebe ges	samt, %	7,8±0,9	9,5±0,7	0,036
Bindegeweb	e >7%, n (%)	13 (45%)	15 (68%)	ns
Fibrose, %		3,5±0,2	4,6±0,3	0,007
Narbengewebe, 9	%	32,9±2,7	32,8±2,4	ns
Hypertrophie HM	Z, n (%)	4 (11%)	3 (14%)	ns
Kaliberunterschie	de HMZ, n (%)	28 (97%)	21 (100%)	ns
Größenunterschie	ede HMZK, n (%)	14 (51%)	21 (100%)	ns
Endothelzellverär	nderungen, n (%)	11 (37%)	11 (52%)	ns

### Tabelle 46:Stenosierende Mediaveränderungen im 1. Follow up und<br/>endomyokardiales Remodelling im 2. Follow up

Daten angegeben als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes oder Anzahl Patienten n (%);  $\emptyset$  stenos., nicht ( $\emptyset$ ) stenosierend; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); HMZ, Herzmuskelzellen; HMZK, Herzmuskelzellkerne; ns, nicht signifikant

Patienten mit stenosierenden Mediaveränderungen im FU1 hatten im darauffolgenden FU2 einen erhöhten Anteil an endomyokardialem Bindegewebe und Fibrose.

Die korrespondierenden immunhistochemischen Untersuchungen zeigten, dass Patienten mit nichtstenosierenden Mediaveränderungen früh nach HTx (1. Follow up) im weiteren Verlauf eine verstärkte endomyokardiale Reaktionsintensität für den Collagensubtyp IV (Basalmembran) präsentierten (p=0,031, **Abbildung 22A**). Dagegen war in der gleichen Gruppe die Reaktionsstärke für IgG als Parameter der vaskulären Rejektion ein Jahr nach HTx vermindert (p=0,031, **Abbildung 22B**). Die im 2. Follow up darüber hinaus getesteten Antikörper zeigten keine signifikant unterschiedliche Reaktionsintensität unter Berücksichtigung der Veränderungen der Media im 1. Follow up.



## Abbildung 22:Immunhistochemische Reaktionsintensität für Collagen IV und IgG im<br/>2. Follow up bei morphologischen Veränderungen der Media im 1.<br/>Follow up

(A) Reaktionsintensität für Collagen IV, (B) Reaktionsintensität für IgG; Daten angegeben als Mittelwert  $\pm$  95% Konfidenzintervall (CI); Ø, nicht; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); n, Anzahl

Patienten mit nicht-stenosierenden Mediaveränderungen im FU1 zeigten im FU2 eine verstärkte endomyokardiale Reaktionsintensität für den Collagensubtyp IV und eine verminderte Reaktionsstärke für IgG als Parameter der vaskulären Rejektion.

### 3.8 Beziehungen zwischen morphologischen Erscheinungsformen im mikrovaskulären und epikardialen Strombett

Von diesen Analysen wurden koronarangiographische Typ A und Typ C Läsionen aufgrund ihrer niedrigen Prävalenz (**s. Kapitel 3.5.2, Tabelle 23**) ausgeschlossen. Die korrelative Analyse zwischen mikrovaskulären Endothelzellveränderungen und epikardialen Blutgefäßveränderungen im 1. Follow up (4 Wochen nach HTx, **Tabelle 47**) zeigte weder in den koronarangiographischen noch in den IVUS-Untersuchungen signifikante Beziehungen zwischen bioptischen Endothelzellveränderungen und dem epikardialen Manifestationsmuster der TVP.

Parameter	Endothel	Endothel	Р
	normal	prominent	
Koronarangiographie	n=37	n=39	
Periphere Obliterationen, n (%)	8 (22%)	6 (15%)	ns
Kaliberschwankungen, n (%)			ns
Grad I	5 (14%)	5 (13%)	
Grad II	1 (3%)	8 (21%)	
Grad III	14 (38%)	12 (31%)	
Tapering normal, n (%)	17 (46%)	19 (49%)	ns
Läsionstyp nach Stanford, n (%)			
Тур В1	1 (3%)	4 (10%)	ns
Тур В2	4 (11%)	2 (5%)	ns
IVUS			
Läsionstyp nach Stanford, n (%)			ns
Stanford Klassen 0–II	17 (46%)	16 (41%)	
Stanford Klassen III–IV	20 (54%)	23 (59%)	
Läsionstyp nach Bocksch, n (%)			ns
Fokal	4 (11%)	10 (26%)	
Polyfokal	11 (30%)	12 (31%)	
Diffus	15 (41%)	9 (23%)	
Imp. Läsionen, n (%)	21 (57%)	27 (70%)	ns

### Tabelle 47:Beziehungen zwischen mikrovaskulären Endothelzellveränderungenund epikardialen Blutgefäßveränderungen 1. Follow up

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%);  $\emptyset$  stenos., nicht ( $\emptyset$ ) stenosierend; imp., importiert; Läsion, Koronarläsion; ns, nicht signifikant; V. a., Verdacht auf

Es zeigten sich im FU1 weder in den koronarangiographischen noch in den IVUS-Untersuchungen signifikante Assoziationen zwischen dem Auftreten von mikrovaskulären Endothelzellveränderungen und dem epikardialen Manifestationsmuster der TVP. **Tabelle 48** bildet die Verteilung der epikardialen morphologischen Befunde bei Bestehen verschiedener morphologischer Veränderungen der Media im 1. Follow up ab. Auch hier zeigten sich keine Beziehungen zwischen den epikardialen Manifestationsformen der TVP im IVUS bzw. der Koronarangiographie und der Prävalenz bioptischer Mediaveränderungen.

Tabelle 48:	Beziehungen zwischen mikrovaskulären Mediaveränderungen und
	epikardialen Blutgefäßveränderungen 1. Follow up

Parameter	Media	Media	Media	Р
	normal	$\varnothing$ stenosierend	stenosierend	
Koronarangiographie	n=18	n=28	n=30	
Periphere Obliterationen, n (%)	3 (17%)	3 (11%)	8 (27%)	ns
Kaliberschwankungen, n (%)				ns
Grad I	2 (11%)	5 (18%)	3 (10%)	
Grad II	2 (11%)	2 (7%)	5 (17%)	
Grad III	6 (33%)	8 (29%)	12 (40%)	
Tapering normal, n (%)	8 (44%)	15 (54%)	13 (43%)	ns
Läsionstyp nach Stanford, n (%)				
Тур В1	-	2 (7%)	3 (10%)	ns
Тур В2	-	3 (11%)	3 (10%)	ns
IVUS				
Läsionstyp nach Stanford, n (%)				ns
Stanford Klassen 0–II	9 (50%)	14 (46%)	11 (37%)	
Stanford Klassen III–IV	9 (50%)	15 (54%)	19 (63%)	
Läsionstyp nach Bocksch, n (%)				ns
Fokal	2 (11%)	6 (21%)	6 (20%)	
Polyfokal	7 (39%)	5 (18%)	11 (37%)	
Diffus	3 (17%)	14 (50%)	7 (23%)	
Imp. Läsionen, n (%)	8 (45%)	17 (61%)	23 (77%)	ns

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%);  $\emptyset$  stenos., nicht ( $\emptyset$ ) stenosierend; imp., importiert; Läsion, Koronarläsion; ns, nicht signifikant; V. a., Verdacht auf

Im FU1 fanden sich keine Beziehungen zwischen der epikardialen TVP im IVUS oder Koronarangiographie und der Prävalenz bioptischer Mediaveränderungen.

Bei Patienten mit stenosierenden Mediaveränderungen (**Tabelle 49**) wurde in den IVUS-Untersuchungen signifikant häufiger der Verdacht auf importierte Koronarläsionen gestellt (77%) als bei Patienten mit unauffälliger oder nicht-stenosierender Mediamorphologie (54%, p=0,041). Weitere morphologische Phänomene der epikardialen TVP waren nicht mit den Veränderungen der Media assoziiert.

# Tabelle 49:Beziehungen zwischen mikrovaskulären stenosierendenMediaveränderungen und epikardialen Blutgefäßveränderungen im 1.Follow up

Parameter	Media	Media	Р
	normal/ $\varnothing$ stenos.	stenosierend	
Koronarangiographie	n=	n=	
Periphere Obliterationen, n (%)	6 (13%)	8 (27%)	ns
Kaliberschwankungen, n (%)			ns
Grad I	7 (15%)	3 (10%)	
Grad II	4 (9%)	5 (17%)	
Grad III	14 (30%)	12 (40%)	
Tapering normal, n (%)	23 (50%)	13 (53%)	ns
Läsionstyp nach Stanford, n (%)			
Тур В1	2 (4%)	3 (10%)	ns
Тур В2	3 (7%)	3 (10%)	ns
IVUS			
Läsionstyp nach Stanford, n (%)			
Stanford Klassen 0–II	22 (48%)	11 (37%)	ns
Stanford Klassen III–IV	24 (52%)	19 (63%)	ns
Läsionstyp nach Bocksch, n (%)			ns
Fokal	8 (17%)	6 (20%)	
Polyfokal	12 (26%)	11 (37%)	
Diffus	17 (37%)	7 (23%)	
Imp. Läsionen, n (%)	25 (54%)	23 (77%)	0,041

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%);  $\emptyset$  stenos., nicht ( $\emptyset$ ) stenosierend; imp., importiert; Läsion, Koronarläsion; ns, nicht signifikant; V. a., Verdacht auf

Im FU1 wurde im IVUS bei Patienten mit stenosierenden Mediaveränderungen häufiger der Verdacht auf importierte Koronarläsionen gestellt.

Auch im 2. Follow up (**Tabelle 50**) waren keine Prävalenzunterschiede epikardialer Gefäßveränderungen in den koronarangiographischen bzw. IVUS-Untersuchungen im Hinblick auf das Bestehen endothelialer Veränderungen in den Biopsieproben nachzuweisen.

Parameter	Endothel	Endothel	Р
	normal	prominent	
Koronarangiographie	n=30	n=22	
Periphere Obliterationen, n (%)	15 (50%)	13 (59%)	ns
Kaliberschwankungen, n (%)			ns
Grad I	8 (27%)	3 (14%)	
Grad II	5 (17%)	1 (5%)	
Grad III	13 (43%)	9 (41%)	
Tapering normal, n (%)	7 (23%)	6 (27%)	ns
Läsionstyp nach Stanford, n (%)			
Тур В1	5 (17%)	5 (23%)	ns
Тур В2	11 (37%)	9 (41%)	ns
IVUS			
Läsionstyp nach Stanford, n (%)			ns
Stanford Klassen 0–II	10 (36%)	9 (43%)	
Stanford Klassen III–IV	18 (64%)	12 (57%)	
Läsionstyp nach Bocksch, n (%)			ns
Fokal	4 (14%)	5 (24%)	
Polyfokal	10 (36%)	5 (24%)	
Diffus	11 (39%)	10 (48%)	
Zunahme Plaquelast, n (%)	13 (46%)	13 (62%)	ns

### Tabelle 50:Beziehungen zwischen mikrovaskulären Endothelzellveränderungen<br/>und epikardialen Blutgefäßveränderungen im 2. Follow up

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%); Ø stenos., nicht (Ø) stenosierend; ns, nicht signifikant Bioptisch nachweisbare prominente Endothelzellen im FU2 zeigten kein morphologisches Korrelat in den zeitgleich durchgeführten IVUS- und koronarangiographischen Untersuchungen. Dagegen waren im 2. Follow up (**Tabelle 51**) periphere Obliterationen als Kriterium des generalisierten Blutgefäßbefalls signifikant mit dem Auftreten stenosierender Mediaveränderungen (69%) assoziiert und betrafen nur 36% der Patienten mit nicht-stenosierenden Mediaveränderungen bzw. 17% der Patienten mit einer normalen Mediamorphologie (p=0,018). Die weiteren morphologischen Befunde in der epikardialen Strombahn zeigten keine Beziehungen zum Bestehen von Mediaveränderungen in den Biopsieproben.

),018 15
),018 15
),018 1s
),018 1s
าร
۱S
۱S
IS
าร
IS
าร
ו ו ו

### Tabelle 51:Beziehungen zwischen mikrovaskulären Mediaveränderungen und<br/>epikardialen Blutgefäßveränderungen im 2. Follow up

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%); Ø stenos., nicht (Ø) stenosierend; ns, nicht signifikant Im FU2 waren periphere Obliterationen als Kriterium des generalisierten Blutgefäßbefalls mit dem Auftreten stenosierender Mediaveränderungen assoziiert.
Periphere Obliterationen in der Koronarangiographie fanden sich im 2. Follow up häufiger bei Patienten mit als bei Patienten ohne luminalen Stenosen in der terminalen Strombahn (p=0,007, **Tabelle 52**). Die Sensitivität peripherer Obliterationen für das Bestehen einer stenosierenden Mikrovaskulopathie betrug 70%, die Spezifität 69%, der positive prädiktive Wert 79% und der negative prädiktive Wert 42%. Alle anderen Kriterien für epikardiale Blutgefäßveränderungen wiesen keine Korrelationen zu mikrovaskulären Stenosen auf.

# Tabelle 52:Beziehungen zwischen mikrovaskulären stenosierendenMediaveränderungen und epikardialen Blutgefäßveränderungen im 2.Follow up

Parameter	Media	Media	Р
	normal/ $\varnothing$ stenos.	stenosierend	
Koronarangiographie	n=20	n=32	
Periphere Obliterationen, n (%)	6 (30%)	22 (69%)	0,007
Kaliberschwankungen, n (%)			ns
Grad I	2 (10%)	9 (28%)	
Grad II	3 (15%)	3 (9%)	
Grad III	10 (50%)	12 (38%)	
Tapering normal, n (%)	4 (20%)	9 (28%)	ns
Läsionstyp nach Stanford, n (%)			
Тур В1	3 (15%)	7 (22%)	ns
Тур В2	6 (30%)	14 (44%)	ns
IVUS			
Läsionstyp nach Stanford, n (%)			ns
Stanford Klassen 0–II	5 (26%)	14 (47%)	
Stanford Klassen III–IV	14 (73%)	16 (53%)	
Läsionstyp nach Bocksch, n (%)			ns
Fokal	3 (16%)	6 (20%)	
Polyfokal	9 (47%)	6 (20%)	
Diffus	6 (32%)	15 (50%)	
Zunahme Plaquelast, n (%)	9 (47%)	17 (57%)	ns

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%); Ø stenos., nicht (Ø) stenosierend; ns, nicht signifikant Das Kriterium des generalisierten Blutgefäßbefalls (periphere Obliterationen) war im FU2 mit dem Auftreten einer stenosierenden Mikrovaskulopathie assoziiert. Die Sensitivität peripherer Obliterationen für eine gleichzeitig stenosierende Mikrovaskulopathie betrug 70%, die Spezifität 69%, der positive prädiktive Wert 79% und der negative prädiktive Wert 42%.

Zusätzlich zeigte sich im FU2, dass Patienten mit bioptisch progredienten Mediaveränderungen häufiger Stanford Typ B2-Läsionen aufwiesen als Patienten mit stationärem Befund (55% [11/20] vs.

25% [6/34], p=0,042). Gleiches hinsichtlich der Stanford Typ B2-Läsionen galt für Patienten, bei denen im 2. Follow up erstmalig eine stenosierende Mediaverdickung diagnostiziert wurde (63% [10/16] vs. 29% [10/35], p=0,024), und zusätzlich zeigten diese Patienten signifikant häufiger neu aufgetretene periphere Obliterationen (69% [11/16] vs. 26% [9/35], p=0,005).

Anschließend wurde geprüft, ob mikrovaskuläre Veränderungen 4 Wochen nach HTx (1. Follow up) mit dem Auftreten epikardialer Blutgefäßveränderungen ein Jahr nach HTx (2. Follow up) korreliert waren. Bezüglich der Assoziation von prominenten Endothelzellen früh nach HTx und dem konsekutiven Befund von bestimmten epikardialen Manifestationsformen der TVP (**Tabelle 53**) zeigten sich keine statistisch signifikanten Ergebnisse.

### Tabelle 53:Beziehungen zwischen mikrovaskulären Endothelzellveränderungen im1. Follow up und epikardialen Blutgefäßveränderungen 2. Follow up

Parameter	FU1	Endothel	Endothel	Р
		normal	prominent	
FU2 Koronarangiogra	iphie	n=27	n=28	
Periphere Obliteration	nen, n (%)	14 (52%)	16 (57%)	ns
Kaliberschwankunger	ı, n (%)			ns
Grad I		8 (30%)	4 (14%)	
Grad II		2 (7%)	4 (14%)	
Grad III		13 (48%)	11 (39%)	
Tapering normal, n (	%)	5 (19%)	9 (32%)	ns
Läsionstyp nach Stan	lford, n (%)			
Тур В1		3 (11%)	9 (32%)	ns
Тур В2		14 (52%)	8 (29%)	ns
FU2 IVUS				
Läsionstyp nach Stan	ıford, n (%)			ns
Stanford Klassen	0–II	10 (40%)	10 (37%)	
Stanford Klassen	ı III–IV	15 (60%)	17 (63%)	
Läsionstyp nach Bock	‹sch, n (%)			ns
Fokal		4 (16%)	5 (19%)	
Polyfokal		10 (40%)	6 (22%)	
Diffus		11 (44%)	12 (44%)	
Zunahme Plaquelast,	n (%)	14 (56%)	14 (52%)	ns

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%);  $\emptyset$  stenos., nicht ( $\emptyset$ ) stenosierend; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); ns, nicht signifikant

Prominente Endothelzellen im FU1 zeigten keine Assoziation zu konsekutiven epikardialen Manifestationsformen der TVP im FU2.

**Tabelle 54** stellt die Beziehungen zwischen medialen Veränderungen im 1. Follow up mit den Ergebnissen der koronarangiographischen und IVUS-Untersuchungen ein Jahr nach HTx dar. Patienten mit stenosierenden (64%) und nicht-stenosierenden Veränderungen der Media (67%) 4 Wochen nach HTx zeigten in den darauffolgenden koronarangiographischen Untersuchungen signifikant häufiger periphere Obliterationen als Patienten mit normaler Mediamorphologie (27%, p=0,039). Die weiteren epikardialen Manifestationsformen wiesen keine statistisch relevanten Häufigkeitsunterschiede im Hinblick auf die mikrovaskulären Befunde der Media auf.

Parameter	FU1	Media	Media	Media	Р
		normal	$\varnothing$ stenosierend	stenosierend	
FU2 Koronarang	iographie	n=15	n=18	n=22	
Periphere Obliter	rationen, n (%)	4 (27%)	12 (67%)	14 (64%)	0,039
Kaliberschwanku	ingen, n (%)				ns
Grad I		5 (33%)	4 (22%)	3 (14%)	
Grad II		1 (7%)	2 (11%)	3 (14%)	
Grad III		5 (33%)	10 (57%)	9 (41%)	
Tapering normal	, n (%)	1 (7%)	4 (22%)	9 (41%)	ns
Läsionstyp nach	Stanford, n (%)				
Typ B1		1 (7%)	4 (22%)	7 (32%)	ns
Typ B2		6 (40%)	9 (50%)	7 (32%)	ns
FU2 IVUS					
Läsionstyp nach	Stanford, n (%)				ns
Stanford Kla	assen 0–II	6 (40%)	6 (35%)	8 (40%)	
Stanford Kla	assen III–IV	9 (60%)	11 (65%)	12 (60%)	
Läsionstyp nach	Bocksch, n (%)				ns
Fokal		1 (7%)	4 (24%)	4 (20%)	
Polyfokal		5 (33%)	5 (29%)	6 (30%)	
Diffus		8 (53%)	8 (47%)	7 (35%)	
Zunahme Plaque	elast, n (%)	8 (53%	12 (71%)	8 (40%)	ns

## Tabelle 54:Beziehungen zwischen mikrovaskulären Mediaveränderungen im 1.Follow up und epikardialen Blutgefäßveränderungen 2. Follow up

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%);  $\emptyset$  stenos., nicht ( $\emptyset$ ) stenosierend; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); ns, nicht signifikant

Patienten mit stenosierenden und nicht-stenosierenden Veränderungen der Media im FU1 zeigten im FU2 häufiger periphere Obliterationen als Patienten mit normaler Mediamorphologie.

In **Tabelle 55** findet sich die korrelative Betrachtung zwischen stenosierenden Veränderungen der Media im 1. Follow up und den Befunden der koronarangiographischen und IVUS-Untersuchungen ein Jahr nach HTx. Hier zeigten Patienten mit stenosierenden Mediaveränderungen im 1. Follow up häufiger eine normale Gefäßverjüngung (Tapering) in der darauffolgenden Jahresuntersuchung (41% vs. 15%, p=0,034). Die weiteren Parameter des epikardialen Blutgefäßbefalls zeigten keine Assoziation mit dem Auftreten luminaler Stenosen in der terminalen Strombahn.

# Tabelle 55:Beziehungen zwischen mikrovaskulären stenosierendenMediaveränderungen im 1. Follow up und epikardialenBlutgefäßveränderungen 2. Follow up

Para	ameter	FU1	Media	Media	Ρ
			normal/ $\varnothing$ stenos.	stenosierend	
FU2	Koronarangiogra	aphie	n=33	n=22	
Peri	phere Obliteratio	onen, n (%)	16 (49%)	14 (64%)	ns
Kali	berschwankunge	en, n (%)			ns
	Grad I		9 (27%)	3 (14%)	
	Grad II		3 (9%)	3 (14%)	
	Grad III		15 (46%)	9 (41%)	
Тар	ering normal, n (	(%)	5 (15%)	9 (41%)	0,034
Läsi	ionstyp nach Stai	nford, n (%)			
	Тур В1		5 (15%)	7 (32%)	ns
	Тур В2		15 (45%)	7 (32%)	ns
FU2	2 IVUS				
Läsi	ionstyp nach Stai	nford, n (%)			ns
	Stanford Klasse	n 0–II	12 (38%)	8(40%)	
	Stanford Klasse	n III–IV	20 (63%)	12 (60%)	
Läsi	ionstyp nach Boc	ksch, n (%)			ns
	Fokal		5 (16%)	4 (20%)	
	Polyfokal		10 (31%)	6 (30%)	
	Diffus		16 (50%)	7 (35%)	
Zun	ahme Plaquelast	, n (%)	20 (63%)	8 (40%)	ns

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%);  $\emptyset$  stenos., nicht ( $\emptyset$ ) stenosierend; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); ns, nicht signifikant

Patienten mit stenosierenden Mediaveränderungen im FU1 zeigten häufiger ein normales Tapering im FU2 als Patienten mit einer nicht-stenosierenden Mikrovaskulopathie. Anschließend wurde untersucht, ob bestimmte epikardiale Blutgefäßveränderungen 4 Wochen nach HTx (1. Follow up) denen in der terminalen Strombahn vorangehen (2. Follow up). **Tabelle 56** zeigt, dass Patienten mit prominenten Endothelzellen ein Jahr nach HTx (2. Follow up) signifikant häufiger in der koronarangiographischen Voruntersuchung ein normales Tapering aufwiesen (68%) als Patienten mit normaler Endothelzellmorphologie (40%, p=0,041). Darüber hinaus waren diese Patienten seltener von diffus verteilten Läsionen im IVUS betroffen (9% vs. 47%, p=0,031). Die weiteren Analysen mit dieser Gruppenvariablen zeigten statistisch keine signifikanten Differenzen.

# Tabelle 56:Beziehungen zwischen morphologischen Erscheinungsformen im<br/>epikardialen Strombett im 1. Follow up und mikrovaskulären<br/>Endothelzellveränderungen im 2. Follow up

Parameter	FU2	Endothel	Endothel	Р
		normal	prominent	
FU1 Koronar	angiographie	n=30	n=22	
Periphere Ob	oliterationen, n (%)	4 (13%)	4 (18%)	ns
Kaliberschwa	ankungen, n (%)			ns
Grad I		7 (23%)	1 (5%)	
Grad II		4 (13%)	2 (9%)	
Grad III		9 (30%)	7 (32%)	
Tapering nor	rmal, n (%)	12 (40%)	15 (68%)	0,041
Läsionstyp n	ach Stanford, n (%)			
Typ B1		2 (7%)	2 (9%)	ns
Typ B2		2 (7%)	1 (5%)	ns
FU1 IVUS				
Läsionstyp n	ach Stanford, n (%)			ns
Stanford	d Klassen 0–II	13 (43%)	13 (59%)	
Stanford	d Klassen III–IV	17 (57%)	9 (41%)	
Läsionstyp n	ach Bocksch, n (%)			0,031
Fokal		4 (13%)	7 (31%)	
Polyfoka	al	6 (20%)	6 (27%)	
Diffus		14 (47%)	2 (9%)	
Imp. Läsione	en, n (%)	12 (40%)	7 (32%)	ns
V. a. im	p. Läsionen, n (%)	6 (20%)	6 (27%)	ns

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%);  $\emptyset$  stenos., nicht ( $\emptyset$ ) stenosierend; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); imp., importiert; Läsion, Koronarläsion; ns, nicht signifikant; V. a., Verdacht auf

Patienten mit prominenten Endothelzellen im FU2 zeigten häufiger in der koronarangiographischen Voruntersuchung ein normales Tapering und waren seltener von diffus verteilten Läsionen im IVUS betroffen.

Koronarangiographisch oder anhand der IVUS-Untersuchungen diagnostizierte epikardiale Blutgefäßveränderungen im 1. Follow up waren nicht mit darauffolgenden Veränderungen der Media (**Tabelle 57**) oder dem Befund einer stenosierenden Mikrovaskulopathie verknüpft (**Tabelle 58**).

# Tabelle 57:Beziehungen zwischen morphologischen Erscheinungsformen im<br/>epikardialen Strombett im 1. Follow up und mikrovaskulären<br/>Mediaveränderungen im 2. Follow up

Parameter	FU2	Media	Media	Media	Р
		normal	$\varnothing$ stenosierend	stenosierend	
FU1 Koronarangiogr	aphie	n=6	n=14	n=32	
Periphere Obliteration	onen, n (%)	-	1 (7%)	7 (21%)	ns
Kaliberschwankunge	en, n (%)				ns
Grad I		1 (17%)	3 (21%)	4 (13%)	
Grad II		1 (17%)	-	5 (17%)	
Grad III		3 (50%)	3 (21%)	10 (31%)	
Tapering normal, n	(%)	2 (33%)	6 (64%)	16 (50%)	ns
Läsionstyp nach Sta	nford, n (%)				
Тур В1		_	-	4 (13%)	ns
Тур В2		_	1 (7%)	2 (6%)	ns
FU1 IVUS					
Läsionstyp nach Sta	nford, n (%)				ns
Stanford Klasse	n 0–II	2 (33%)	7 (50%)	17 (53%)	
Stanford Klasse	n III–IV	4 (67%)	7 (50%)	15 (47%)	
Läsionstyp nach Boo	cksch, n (%)				ns
Fokal		_	5 (36%)	6 (19%)	
Polyfokal		2 (33%)	2 (14%)	8 (25%)	
Diffus		3 (50%)	3 (21%)	10 (31%)	
Imp. Läsionen, n (%	ώ)	3 (50%)	5 (36%)	11 (34%)	ns
V. a. imp. Läsio	nen, n (%)	1 (17%)	4 (29%)	7 (22%)	ns

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%);  $\emptyset$  stenos., nicht ( $\emptyset$ ) stenosierend; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); imp., importiert; Läsion, Koronarläsion; ns, nicht signifikant; V. a., Verdacht auf

Koronarangiographisch oder anhand des IVUS diagnostizierte epikardiale Blutgefäßveränderungen im FU1 waren nicht mit darauffolgenden Veränderungen der Media verknüpft.

# Tabelle 58:Beziehungen zwischen morphologischen Erscheinungsformen im<br/>epikardialen Strombett im 1. Follow up und mikrovaskulären<br/>stenosierenden Mediaveränderungen im 2. Follow up

Parameter FU2	Media	Media	Р
	normal/ $\varnothing$ stenos.	stenosierend	
FU1 Koronarangiographie	n=20	n=32	
Periphere Obliterationen, n (%)	1 (5%)	7 (22%)	ns
Kaliberschwankungen, n (%)			ns
Grad I	4 (20%)	4 (13%)	
Grad II	1 (5%)	5 (16%)	
Grad III	6 (30%)	10 (31%)	
Tapering normal, n (%)	11 (55%)	16 (50%)	ns
Läsionstyp nach Stanford, n (%)			
Тур В1	_	4 (13%)	ns
Тур В2	1 (5%)	2 (6%)	ns
FU1 IVUS			
Läsionstyp nach Stanford, n (%)			ns
Stanford Klassen 0–II	9 (45%)	17 (53%)	
Stanford Klassen III–IV	11 (55%)	15 (47%)	
Läsionstyp nach Bocksch, n (%)			ns
Fokal	5 (25%)	6 (19%)	
Polyfokal	4 (20%)	8 (25%)	
Diffus	6 (30%)	10 (31%)	
Imp. Läsionen, n (%)	8 (40%)	11 (34%)	ns
V. a. imp. Läsionen, n (%)	5 (25%)	7 (22%)	ns

Daten angegeben als Anzahl Patienten n (%);  $\emptyset$  stenos., nicht ( $\emptyset$ ) stenosierend; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); imp., importiert; Läsion, Koronarläsion; ns, nicht signifikant; V. a., Verdacht auf

Koronarangiographisch oder anhand des IVUS diagnostizierte epikardiale Blutgefäßveränderungen im FU1 zeigten keine Assoziation mit dem darauffolgenden Befund einer stenosierenden Mikrovaskulopathie.

#### 3.9 Risikofaktoren für die Entwicklung mikrovaskulärer Veränderungen nach Herztransplantation

Anhand der univariaten logistischen Regressionsanalyse konnten als Risikofaktoren für die Ausprägung von prominenten Endothelzellen im 1. Follow up (**Tabelle 59**) beim Empfänger die Präsenz von HLA DR1 (Odds Ratio [OR] 95% Konfidenzintervall [95%CI] 5,250 [1,052–26,210]), HLA DRq5 (4,620 [1,355–15,754]), ein Missmatch bei HLA A19 (2,801 [1,024–7,665]) sowie seitens des Spenders die Präsenz von HLA DR7 (3,014 [1,008–9,007]) identifiziert werden. In den bioptischen Untersuchungen zeigte sich das Auftreten einer akuten zellulären Rejektion (2,565 [0,983–6,696]) als statistisch relevant. Darüber hinaus war eine verstärkte Thrombozytenaggregation im Epinephrintest des TAT (1,031 [1,005–1,058]) mit dem Auftreten von prominenten Endothelzellen assoziiert. Negativ korreliert mit der Präsenz von Endothelzellveränderungen war die absolute Anzahl der T-Helferzellen (0,997 [0,995–1,000]).

In der multivariaten Analyse stellten sich das HLA DRq5 seitens des Empfängers (4,899 [1,152–20,836]), die akute zelluläre Rejektion (3,516 [1,113–11,108]) sowie eine verstärkte Thrombozytenaggregation im Epinephrintest (1,033 [1,003–1,063]) als signifikante Risikofaktoren für das Auftreten von prominenten Endothelzellen 4 Wochen nach HTx dar.

labelle 59:	Odds Ratio für die Entwicklung von Endotheizellveränderungen im 1.
	Follow up

. .. .

**~**···

- -

...

. ..

Parameter	Univariate OR (95% CI)	Multivariate OR (95% CI)
Empfänger HLA DR1	5,250 (1,052–26,210)	-
Empfänger HLA DRq5	4,620 (1,355–15,754)	4,899 (1,152–20,836)
Missmatch HLA A19	2,801 (1,024–7,665)	-
Spender HLA DR7	3,014 (1,008–9,007)	-
FU1 Biopsie/zelluläre Rejektion	2,565 (0,983–6,696)	3,516 (1,113–11,108)
FU1 TAT/Epinephrin	1,031 (1,005–1,058)	1,033 (1,003–1,063)
FU1 CIM/absolute T-Helferzellen	0,997 (0,995–1,000)	-

Daten angegeben als Odds Ratio (OR) und 95% Konfidenzintervall (CI); CIM, zytoimmunologisches Monitoring; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); HLA, Human Leukocyte Antigen; TAT, Thrombozytenaggregationstest *In der multivariaten Analyse waren im FU1 das Empfänger-HLA DRq5, die akute zelluläre Rejektion sowie eine verstärkte Thrombozytenaggregation im Epinephrintest Risikofaktoren für das Auftreten von prominenten Endothelzellen.* 

Als Risikofaktoren für stenosierende Mediaveränderungen im 1. Follow up (**Tabelle 60**) wurden seitens des Empfängers die Präsenz von HLA A3 (5,098 [1,661–15,648]), ein Missmatch bei HLA A3 (2,612 [1,007–6,777]), Missmatch bei HLA B13 (4,362 [1,029–18,489]), Missmatch bei HLA B15 (4,261 [1,445–12,559]) sowie ein Missmatch bei HLA DR53 (2,791 [1,069–7,288]) als relevante Faktoren bestimmt. Bioptisch zeigten sich prominente Endothelzellen (4,691 [1,714–12,836]) und die Reaktionsintensität für Alpha-Aktin (4,250 [1,603–11,269]) als signifikante Risikofaktoren für das Auftreten einer stenosierenden Mikrovaskulopathie. Im zytoimmunologischen Monitoring ging der Anteil an NK-Zellen (1,045 [1,001–1,091]) mit einem erhöhten Risiko für eine stenosierende Mikrovaskulopathie einher. Als einziger protektiver Faktor wurde die absolute Höhe des zeitgleich bestimmten Everolimusspiegel (0,718 [0,515–0,999]) identifiziert.

Im multivariaten Ansatz waren ausschließlich die Präsenz von prominenten Endothelzellen (5,581 [1,660–18,761]), die Reaktionsintensität für Alpha-Aktin (6,815 [2,015–23,050]) und der Anteil an NK-Zellen im zytoimmunologischen Monitoring (1,064 [1,008–1,123]) signifikant mit dem Auftreten stenosierender Mediaveränderungen im 1. Follow up assoziiert.

Parameter	Univariate OR (95% CI)	Multivariate OR (95% CI)
Empfänger HLA A3	5,098 (1,661–15,648)	-
Missmatch HLA A3	2,612 (1,007–6,777)	-
Missmatch HLA B13	4,362 (1,029–18,489)	-
Missmatch HLA B15	4,261 (1,445–12,559)	-
Missmatch HLA DR53	2,791 (1,069–7,288)	-
FU1 Biopsie/Endothel prominent	4,691 (1,714–12,836)	5,581 (1,660–18,761)
FU1 Biopsie/Alpha-Aktin	4,250 (1,603–11,269)	6,815 (2,015–23,050)
FU1 CIM/NK-Zellen	1,045 (1,001–1,091)	1,064 (1,008–1,123)
FU1 Everolimusspiegel	0,718 (0,515–0,999)	-

### Tabelle 60:Odds Ratio für die Entwicklung von stenosierendenMediaveränderungen im 1. Follow up

Daten angegeben als Odds Ratio (OR) und 95% Konfidenzintervall (CI); CIM, zytoimmunologisches Monitoring; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); HLA, Human Leukocyte Antigen; NK-Zellen, natürliche Killerzellen Im FU1 waren in der multivariaten Regressionsanalyse die Präsenz von Endothelzellveränderungen, die Reaktionsintensität für Alpha-Aktin und der Anteil an NK-Zellen im zytoimmunologischen Monitoring Risikofaktoren für das Auftreten stenosierender Mediaveränderungen.

Da die Inzidenz prominenter Endothelzellen im 2. Follow up nur 15% (8/52) betrug (**s. Kapitel 3.5.5**, **Tabelle 26**), wurde dieser Parameter nicht separat in der Regressionsanalyse überprüft.

In der univariaten Regressionsanalyse wurden als Risikofaktoren für prominente Endothelzellen im 2. Follow up (**Tabelle 61**) seitens des Spenders die Präsenz von HLA DR52 (4,000 [1,225–13,056]) und ein Missmatch bei HLA Bw4 (5,893 [1,760–19,735]) bestimmt. Im zytoimmunologischen Monitoring wiesen der Anteil an NK-Zellen im FU1 (1,062 [1,008–1,119]), bioptisch die Kopienanzahl von PVB19 (1,004 [1,000–1,008]), und serologisch der Nachweis von Fibrinogen (1,014 [1,004–1,023]) ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung von prominenten Endothelzellen auf. Die Einnahme eines ACE-Hemmers im Follow up 2 erhöhte das Risiko für die Präsenz von Endothelzellveränderungen (6,333 [1,241–32,320]). Dabei wiesen Patienten unter ACE-Hemmer-Therapie gleichzeitig eine erhöhte aggregatorische Aktivität der Thrombozyten auf Arachidonsäure auf (71% vs. 49%; p=0,025). Das Spenderalter (0,927 [0,875–0,982]) sowie der Anteil an T-Helferzellen im zytoimmunologischen Monitoring im FU1 (0,947 [0,905–0,991]) waren negativ mit dem morphologischen Befund von prominenten Endothelzellen assoziiert.

Multivariat geprüft stellten der Anteil an NK-Zellen im zytoimmunologischen Monitoring (1,089 [1,010– 1,175]) sowie der serologische Nachweis von Fibrinogen (1,015 [1,004–1,026]) relevante Risikofaktoren für die Präsenz von prominenten Endothelzellen im 2. Follow up dar.

Parameter	Univariate OR (95% CI)	Multivariate OR (95% CI)
Spender HLA DR52	4,000 (1,225–13,056)	-
Missmatch HLA Bw4	5,893 (1,760–19,735)	-
Spenderalter	0,927 (0,875–0,982)	-
FU1 CIM/T-Helferzellen	0,947 (0,905–0,991)	-
FU1 CIM/NK-Zellen	1,062 (1,008–1,119)	1,089 (1,010–1,175)
FU2 Biopsie/Anzahl Kopien PVB19	1,004 (1,000–1,008)	-
FU2 Blut/Fibrinogen	1,014 (1,004–1,023)	1,015 (1,004–1,026)
FU2 ACE-Hemmer	6,333 (1,241–32,320)	-

### Tabelle 61:Odds Ratio für das Auftreten von Endothelzellveränderungen im 2.Follow up

Daten angegeben als Odds Ratio (OR) und 95% Konfidenzintervall (CI); ACE, Angiotensin Converting Enzym; CIM, zytoimmunologisches Monitoring; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); HLA, Human Leukocyte Antigen; NK-Zellen, natürliche Killerzellen; PVB19, Parvovirus B19 *Multivariat geprüft stellten im FU2 NK-Zellen im zytoimmunologischen Monitoring sowie der serologische Nachweis von Fibrinogen Risikofaktoren für die Präsenz von prominenten Endothelzellen dar.*  Als Risikofaktoren für stenosierende Mediaveränderungen im 2. Follow up (**Tabelle 62**) wurden seitens des Empfängers die Präsenz von HLA DR4 (4,407 [1,074–18,092]) und ein Missmatch bei HLA DR53 (3,377 [1,041–10,957]) bestimmt. Bioptisch gingen der zeitgleiche immunhistochemische Nachweis von Alpha-Aktin (6,727 [1,269–35,658]) und PCNA (3,618 [0,878–14,904]), ein positiver Virusnachweis (3,667 [1,115–12,054]) und die Anzahl viraler Genome (3,002 [1,434–6,284]) sowie der Nachweis von EBV (7,286 [1,775–29,907]) mit einem erhöhten Risiko für eine stenosierende Mikrovaskulopathie einher. Entgegengesetzt korreliert waren seitens des Spenders die Dauer des Hirntods (0,884 [0,777–1,006]) sowie im zytoimmunologischen Monitoring die absolute Anzahl von T-Helferzellen (0,998 [0,996–1,000]).

In der multivariaten Analyse waren der zeitgleiche immunhistochemische Nachweis von Alpha-Aktin (18,746 [1,488–236,131]) und PCNA (10,174 [1,082–95,643]) sowie der Nachweis von EBV (11,230 [1,692–74,542]) signifikante Risikofaktoren für die Präsenz stenosierender Mediaveränderungen. Als entgegengesetzt korrelierte Faktoren im Hinblick auf das Auftreten einer stenosierenden Mikrovaskulopathie im 2. Follow up zeigten sich die Dauer des Hirntods beim Spender (0,808 [0,659–0,992]) bzw. im zytoimmunologischen Monitoring die absolute Anzahl von T-Helferzellen (0,996 [0,992–1,000]).

Parameter	Univariate OR (95% CI)	Multivariate OR (95% CI)
Empfänger HLA DR4	4,407 (1,074–18,092)	-
Spender Dauer Hirntod	0,884 (0,777–1,006)	0,808 (0,659–0,992)
Missmatch HLA DR53	3,377 (1,041–10,957)	-
FU2 Biopsie/Alpha-Aktin	6,727 (1,269–35,658)	18,746 (1,488–236,131)
FU2 Biopsie/PCNA	3,618 (0,878–14,904)	10,174 (1,082–95,643)
FU2 Biopsie/≥1 virales Agens	3,667 (1,115–12,054)	-
FU2 Biopsie/Anzahl Viren	3,002 (1,434–6,284)	-
FU2 Biopsie/EBV	7,286 (1,775–29,907)	11,230 (1,692–74,542)
FU2 CIM/absolute T-Helferzellen	0,998 (0,996–1,000)	0,996 (0,992–1,000)

Tabelle 62	Odds Ratio für das Auftreten von stenosierenden Mediaveränderungen
	im 2. Follow up

Daten angegeben als Odds Ratio (OR) und 95% Konfidenzintervall (CI); CIM, zytoimmunologisches Monitoring; EBV, Ebstein-Barr-Virus; FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); HLA, Human Leukocyte Antigen; PCNA, Proliferating Cell Nuclear Antigen

In der multivariaten Analyse waren der zeitgleiche immunhistochemische Nachweis von Alpha-Aktin und PCNA sowie der Nachweis von EBV signifikante Risikofaktoren für eine stenosierenden Mikrovaskulopathie im FU2. Entgegengesetzt korrelierte die Dauer des Hirntods beim Spender und die absolute Anzahl von T-Helferzellen im zytoimmunologischen Monitoring. Im nächsten Schritt wurden selektiv die Patienten betrachtet, die im 2. Follow up erstmalig eine stenosierende Mikrovaskulopathie entwickelten (**Tabelle 63**). Hier wurden als Risikofaktoren in der univariaten Analyse beim Empfänger HLA DR4 (5,143 [1,417–18,665]) und beim Spender HLA DR5 (4,667 [1,249–17,439]) bestimmt, während sich eine inverse Korrelation zum Spender-HLA DR7 (0,084 [0,010–0,714]) fand. Im 1. Follow up waren der bioptische Nachweis von CD68 (0,239 [0,063–0,902] und der Serumspiegel von Antithrombin III (0,952 [0,908–0,998]) mit dem Neuauftreten stenosierender Mediaveränderungen invers korreliert, während der Cyclosporin A-Spiegel (1,010 [1,000–1,020]) das Risiko für die Neuentwicklung einer stenosierenden Mikrovaskulopathie erhöhte. Risikofaktoren unter den zeitgleich erhobenen klinischen und paraklinischen Parametern waren der bioptische Nachweis von Alpha-Aktin (7,773 [1,406–42,878]), die Anzahl nachgewiesener viraler Genome (2,104 [1,130–3,918]), EBV (5,500 [1,519–19,912]), PVB19 (3,636 [1,054–12,546]), die Reaktivität der Thrombozyten auf Arachidonsäure (1,028 [1,000–1,057]) sowie der Anteil aktivierter T-Lymphozyten (1,057 [1,002–1,115]) im zytoimmunologischen Monitoring.

In der multivariaten Analyse waren der immunhistochemische Nachweis von Alpha-Aktin (6,382 [1,068–38,132]) und die Detektion von EBV (4,096 [1,036–16,191]) in der Biopsie signifikante Faktoren für die Neuentwicklung einer stenosierenden Mikrovaskulopathie.

Parameter	Univariate OR (95% CI)	Multivariate OR (95% CI)
Empfänger HLA DR4	5,143 (1,417–18,665)	-
Spender HLA DR5	4,667 (1,249–17,439)	-
Spender HLA DR7	0,084 (0,010–0,714)	-
FU1 Biopsie/CD68	0,239 (0,063–0,902)	-
FU1 Blut/Antithrombin III	0,952 (0,908–0,998)	-
FU1 Cyclosporin A-Spiegel	1,010 (1,000–1,020)	-
FU2 Biopsie/Alpha-Aktin	7,773 (1,406–42,878)	6,382 (1,068–38,132)
FU2 Biopsie/Anzahl Viren	2,104 (1,130–3,918)	-
FU2 Biopsie/EBV	5,500 (1,519–19,912)	4,096 (1,036–16,191)
FU2 Biopsie/PVB19	3,636 (1,054–12,546)	-
FU2 TAT/Arachidonsäure	1,028 (1,000–1,057)	-
FU2 CIM/ aktivierte T-LZ	1,057 (1,002–1,115)	-

### Tabelle 63:Odds Ratio für die Entwicklung von stenosierendenMediaveränderungen im 2. Follow up

Daten angegeben als Odds Ratio (OR) und 95% Konfidenzintervall (CI); CIM, zytoimmunologisches Monitoring; EBV, Ebstein-Barr-Virus; FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); HLA, Human Leukocyte Antigen; PVB19, Parvovirus B19; TAT, Thrombozytenaggregationstest; T-LZ, T-Lymphozyten

In der multivariaten Analyse waren die Reaktionsintensität für Alpha-Aktin und der bioptische Nachweis von EBV Risikofaktoren für die Neuentwicklung einer stenosierenden Mikrovaskulopathie. Um die im 2. Follow up neu aufgetretenen nicht-stenosierenden medialen Veränderungen sowie die Bedingung der Befundregression in die Auswertung zu implementieren, wurden beide Parameter separat in der logistischen Regressionsanalyse geprüft (**Tabelle 64**). Hierbei zeigte sich, dass progrediente Verdickungen der Media (Standardschriftschnitt) signifikant positiv mit der Präsenz des Spender-HLA Bw6 (4,000 [1,030–15,534]), dem Cyclosporin A-Spiegel (1,013 [1,001–1,025]) und der Cortisondosis im 1. Follow up (1,271 [1,005–1,608]) sowie im 2. Follow up mit der absoluten Anzahl der aktivierten T-Lymphozyten im zytoimmunologischen Monitoring (1,003 [1,000–1,006]) assoziiert war. Eine negative Korrelation zeigte sich zu den immunhistochemischen Reaktionsintensität für CD34 im 2. Follow up (0,055 [0,004–0,749]). Im multivariaten Ansatz verblieben als signifikante Risikofaktoren der Cyclosporin A-Spiegel im 1. Follow up (1,013 [1,001–1,024]) sowie die absolute Anzahl der aktivierten T-Lymphozyten im zytoimmunologischen Monitoring des 2. Follow up (1,004 [1,000–1,008]).

Unter Einschluss des Kriteriums der Befundregression (*kursiver Schriftschnitt*) wurden neben dem Cyclosporin A-Spiegel 4 Wochen nach HTx und der absoluten Anzahl aktivierter T-Lymphozyten im zytoimmunologischen Monitoring der 1-Jahrsuntersuchung auch die im 1-Jahres-Follow up erhobene immunhistochemische Reaktionsintensität für Alpha-Aktin (6,427 [1,260–32,774]), der bioptische Nachweis von EBV (3,667 [1,122–11,980]) und die Reaktivität der Thrombozyten im TAT auf Epinephrin (1,044 [1,006–1,085]) bzw. Arachidonsäure (1,026 [1,003–1,051]) als signifikante Risikofaktoren für die Progredienz medialer Veränderungen bestimmt. Die Cortisondosis und auch das Spender-HLA Bw6 waren in dieser Analyse nicht mehr signifikant. Hinzu kamen dafür das Spender-HLA DR5 (4,091 [1,111–15,057]) und ein Missmatch bei HLA B8 (3,429 [1,017–11,560]) als Risikofaktoren sowie das Spender-HLA DR7 als negativ korrelierter Faktor (0,231 [0,056–0,959]). Im multivariaten Ansatz blieben das Spender-HLA DR7 als negativ korrelierter Faktor (0,140 [0,027–0,741]) sowie der Cyclosporin A-Spiegel 4 Wochen nach HTx (1,014 [1,002–1,026]) und die Reaktivität der Thrombozyten auf Epinephrin im FU2 (1,045 [1,000–1,095]) signifikante Risikofaktoren, während die Reaktionsintensität für Alpha-Aktin die statistische Signifikanzgrenze nicht erreichte (6,717 [0,997–45,237], p=0,050).

Parameter	Univariate OR (95% CI)	Multivariate OR (95% CI)
Spender HLA Bw6	4,000 (1,030–15,534)	-
Spender HLA DR5	4,091 (1,111–15,057)	-
Spender HLA DR7	0,231 (0,056–0,959)	0,140 (0,027–0,741)
Missmatch HLA B8	3,429 (1,017–11,560)	-
FU1 Cyclosporin A-Spiegel	1,013 (1,001–1,025)	1,013 (1,001–1,024)
FU1 Cyclosporin A-Spiegel	1,010 (1,000–1,020)	1,014 (1,002–1,026)
FU1 Cortisondosis	1,271 (1,005–1,608)	-
FU2 Biopsie/CD34	0,055 (0,004–0,749)	0,040 (0,002–0,681)
FU2 Biopsie/CD34	0,033 (0,002–0,453)	-
FU2 Biopsie/Alpha-Aktin	6,427 (1,260–32,774)	-
FU2 Biopsie/EBV	3,667 (1,122–11,980)	-
FU2 TAT/Epinephrin	1,044 (1,006–1,085)	1,045 (1,000–1,095)
FU2 TAT/Arachidonsäure	1,026 (1,003–1,051)	-
FU2 CIM/absolute aktivierte T-LZ	1,003 (1,000–1,006)	1,004 (1,000–1,008)
FU2 CIM/absolute aktivierte T-LZ	1,003 (1,000–1,005)	_

 Tabelle 64:
 Odds Ratio f
 ür die Progression von Mediaver
 änderungen im 2. Follow up

Daten angegeben als Odds Ratio (OR) und 95% Konfidenzintervall (CI); CIM, zytoimmunologisches Monitoring; EBV, Ebstein-Barr-Virus; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); HLA, Human Leukocyte Antigen; TAT, Thrombozytenaggregationstest

Im FU2 progrediente Verdickungen der Media waren multivariat mit dem Cyclosporin A-Spiegel im FU1 und der absoluten Anzahl aktivierter T-Lymphozyten im FU2 korreliert. Unter Berücksichtigung der Befundregression zeigte sich eine negative Korrelation zum Spender-HLA DR7 sowie eine positive Korrelation zum Cyclosporin A-Spiegel im FU1 und zur Reaktivität der Thrombozyten auf Epinephrin im FU2.

#### 3.10 Risikofaktoren für die Entwicklung generalisierter Blutgefäßveränderungen nach Herztransplantation

Die Ergebnisse der Regressionsanalysen für die Entwicklung von peripheren Obliterationen als Kriterium generalisierter Blutgefäßveränderungen 4 Wochen nach HTx finden sich in **Tabelle 65**. Hier zeigte sich im univariaten Ansatz, dass das Missmatch bei HLA A9 (3,917 [1,179–13,016]), ein bekannter Nikotinkonsum des Spenders (6,444 [1,550–26,786]) sowie im 1. Follow up der Serumkreatininspiegel (6,444 [1,550–26,786]), die absolute Anzahl von NK-Zellen im zytoimmunologischen Monitoring (1,006 [1,002–1,010]) und sowie im IVUS der Nachweis von importierten Koronarläsionen (3,870 [1,148–13,045]) positiv mit dem Auftreten generalisierter Blutgefäßveränderungen korreliert waren. In der multivariaten Regression wurden der Nikotinkonsum des Spenders (8,535 [1,625–44,873]) und im 1. Follow up der Serumkreatininspiegel (2,005 [1,067–3,768]) sowie die absolute Anzahl von NK-Zellen (1,006 [1,002–1,010]) als signifikante Risikofaktoren bestimmt.

### Tabelle 65:Odds Ratio für die Entwicklung generalisierter Blutgefäßveränderungenim 1. Follow up

Parameter	Univariate OR (95% CI)	Multivariate OR (95% CI)
Missmatch HLA A9	3,917 (1,179–13,016)	-
Spender Nikotinkonsum	6,444 (1,550–26,786)	8,535 (1,625–44,873)
FU1 Serum/Kreatinin	6,444 (1,550–26,786)	2,005 (1,067–3,768)
FU1 CIM/absolute NK-Zellen	1,006 (1,002–1,010)	1,006 (1,002–1,010)
FU1 IVUS/importierte Läsionen	3,870 (1,148–13,045)	-

Daten angegeben als Odds Ratio (OR) und 95% Konfidenzintervall (CI); CIM, zytoimmunologisches Monitoring; FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); HLA, Human Leukocyte Antigen; IVUS, intravaskulärer Ultraschall; NK-Zellen, natürliche Killerzellen

Im FU1 waren in der multivariaten Regression der Nikotinkonsum des Spenders und im FU1 der Serumkreatininspiegel sowie die absolute Anzahl von NK-Zellen signifikante Risikofaktoren für einen generalisierten Blutgefäßbefall durch TVP. Im 2. Follow up (Tabelle 66) zeigte sich eine negative Korrelation zwischen Empfänger-HLA DRg6 (0.313 [0,104–0,935]) bzw. der Hirntoddauer des Spenders (0,897 [0,798–1,009]) und dem Auftreten generalisierter Blutgefäßveränderungen. Risikofaktoren im 1. Follow up waren bioptische nichtstenosierende (5,500 [1,219-24,813]) und stenosierende Verdickungen der Media (4,812 [1,144-20,246]) sowie im TAT die Reaktivität der Thrombozyten auf Epinephrin (1,025 [0,997-1,053]). Negative Korrelationen waren 4 Wochen nach HTx mit der Coagulation Time im Thrombelastogramm (0,994 [0,989–0,999]) und dem Immunsuppressivum Everolimus (0,304 [0,097–0,955]) darzustellen. Ein Jahr nach HTx war nur noch das Auftreten einer stenosierenden Mikrovaskulopathie 5,133 [1,525– 17,281] als Risikofaktor signifikant, während die Einnahme von Everolimus (0,329 [0,109–0,988]) bzw. eines Statins (0,135 [0,040-0,0450]) protektive Faktoren darstellten. In der multivariaten Analyse wurden die negativ korrelierten Parameter Dauer des Hirntods des Spenders (0,752 [0,614-0,920]) und die Coagulation Time im 1. Follow up (0,990 [0,983–0,997]) sowie die Risikofaktoren nicht-stenosierende (35,698 [3,422–372,353]) und stenosierende Mediaverdickung (15,966 [1,868– 136,459]) sowie die Reaktivität der Thrombozyten auf Epinephrin (1,053 [1,009–1,099]) im 1. Follow up. Ein Jahr nach HTx zeigte die Kombination aus stenosierender Mikrovaskulopathie (5,899 [1,376– 25,299] und der Einnahme eines Statins (0,152 [0,038-0,607]) statistische Signifikanz für Auftreten generalisierter Blutgefäßveränderungen im 2. Follow up.

Tabelle 66:	Odds Ratio für das Auftreten generalisierter Blutgefäßveränderungen
	im 2. Follow up

Univariate OR (95% CI)	Multivariate OR (95% CI)
0,313 (0,104–0,935)	-
0,897 (0,798–1,009)	0,752 (0,614–0,920)
5,500 (1,219–24,813)	35,698 (3,422–372,353)
4,812 (1,144–20,246)	15,966 (1,868–136,459)
1,025 (0,997–1,053)	1,053 (1,009–1,099)
0,994 (0,989–0,999)	0,990 (0,983–0,997)
0,304 (0,097–0,955)	-
5,133 (1,525–17,281)	5,899 (1,376–25,299)
0,329 (0,109–0,988)	-
0,135 (0,040–0,0450)	0,152 (0,038–0,607)
	Univariate OR (95% CI) 0,313 (0,104–0,935) 0,897 (0,798–1,009) 5,500 (1,219–24,813) 4,812 (1,144–20,246) 1,025 (0,997–1,053) 0,994 (0,989–0,999) 0,304 (0,097–0,955) 5,133 (1,525–17,281) 0,329 (0,109–0,988) 0,135 (0,040–0,0450)

Daten angegeben als Odds Ratio (OR) und 95% Konfidenzintervall (CI); CT, Coagulation Time (Zeit bis zum Beginn des Gerinnungsprozesses); FU1, Follow up 1 (4 Wochen nach HTx); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); HLA, Human Leukocyte Antigen; TAT, Thrombozytenaggregationstest; TEG, Thrombelastogramm

Im FU2 zeigte sich im multivariaten Ansatz eine negative Korrelation zur Dauer des Hirntods des Spenders und der Coagulation Time im FU1 und eine positive Korrelation zur nicht-stenosierenden und stenosierenden Mediaverdickung sowie der Reaktivität der Thrombozyten auf Epinephrin im FU1. Im FU2 war die stenosierende Mikrovaskulopathie positiv und die Einnahme eines Statins negativ mit dem Auftreten generalisierter Blutgefäßveränderungen assoziiert. Im folgenden Schritt wurden selektiv die Patienten betrachtet, die im 2. Follow up erstmalig generalisierte Blutgefäßveränderungen entwickelten (**Tabelle 67**). Hier zeigte sich erneut eine negative Korrelation mit der Dauer des Hirntods des Spenders (0,873 [0,766–0,996]) und sowie zusätzlich dem immunhistochemischen Nachweis von IgG (0,106 [0,016–0,690]) im 2. Follow up. Ebenso negativ korreliert mit der Neuentwicklung generalisierter Blutgefäßveränderungen war die zeitgleich dokumentierte Einnahme eines Statins (0,273 [0,087–0,860]), während die Höhe des Cyclosporin A-Spiegels (1,010 [1,000–1,020]) einen Risikofaktor darstellte. Zu bemerken ist, dass die Einnahme von Everolimus im 2. Follow up ebenso eine negative Korrelation zeigte (0,316 [0,099–1,011], p=0,052), jedoch nicht die statistische Signifikanzgrenze erreichte. Gleiches galt für das Spender-HLA DR5 (3,273 [0,977–10,966], p=0,055).

Im multivariaten Ansatz verblieb einzig die Statineinnahme im 2. Follow up als protektiver Faktor (0,189 [0,045–0,801]).

### Tabelle 67:Odds Ratio für die Entwicklung generalisierter Blutgefäßveränderungenim 2. Follow up

Parameter	Univariate OR (95% CI)	Multivariate OR (95% CI)
Spender Dauer Hirntod	0,873 (0,766–0,996)	-
FU2 Biopsie/IgG	0,106 (0,016–0,690)	-
FU2 Blut/Cyclosporin A-Spiegel	1,010 (1,000–1,020)	-
FU2 Statin	0,273 (0,087–0,860)	0,189 (0,045–0,801)
FU2 Statin	0,273 (0,087–0,860)	0,189 (0,045–0,801)

Daten angegeben als Odds Ratio (OR) und 95% Konfidenzintervall (CI); FU2, Follow up 2 (ein Jahr nach HTx); HLA, Human Leukocyte Antigen; IgG, Immunglobulin G

Im FU2 war nur die Einnahme eines Statins als protektiver Faktor bei generalisierten Blutgefäßveränderungen auch im multivariaten Ansatz signifikant.

#### 3.11 Diskussion

#### 3.11.1 Funktionelle Bedeutung der bioptischen Befunde der terminalen Strombahn

In dieser prospektiven Verlaufsuntersuchung wurde an 78 konsekutiven HTx-Patienten die funktionelle Bedeutung mikrovaskulärer Veränderungen in routinemäßig aufbereiteten rechtsventrikulären Endomyokardbiopsieproben geprüft. Anhand der intrakoronaren dopplergestützten Messungen zeigte sich, dass weder 4 Wochen noch ein Jahr nach HTx Architekturstörungen der terminalen Strombahn mit einer pathologischen Endothelfunktion oder verminderten koronaren Flussgeschwindigkeitsreserve (CFR) einhergingen. Es stellte sich sogar heraus, dass Patienten mit stenosierender Mikrovaskulopathie 4 Wochen nach HTx sowohl zeitgleich als auch in der darauffolgenden 1-Jahres-Untersuchung häufiger eine "gute Endothelfunktion" aufwiesen als Patienten mit nicht-stenosierenden Mediaveränderungen oder unauffälliger Mediamorphologie.

Gemäß der vorliegenden morphologischen Untersuchungsergebnissen der terminalen Strombahn und wie bereits anhand von IVUS-Untersuchungen für die epikardiale TVP gezeigt, war die CFR weder mit dem Auftreten<sup>137, 174</sup> noch der Progression vaskulärer Läsionen assoziiert.<sup>67</sup> Dieser Befund könnte u. a. darauf beruhen, dass die CFR nach HTx durch bestimmte andere Faktoren moduliert wird, wie z. B. die linksventrikuläre Hypertrophie oder das Spenderalter.<sup>235</sup> Mazur und Kollegen<sup>175</sup> zeigten dagegen in ihrem Kollektiv, von dem 45 Patienten innerhalb und 24 Patienten jenseits von drei Jahren nach HTx untersucht wurden, einen signifikanten Zusammenhang zwischen einer verminderten CFR und dem angiographischen Nachweis einer TVP. Allerdings wurde in dieser Analyse das Auftreten einer TVP nur qualitativ und unabhängig vom Zeitpunkt ihrer Manifestation definiert. Daher handelt es sich bei dieser Auswertung um eine Querschnittserhebung, die frühe und späte Stadien der TVP miteinander vermischt. Dieses könnte wiederum neben der Wahl der Koronarangiographie als diagnostischem Instrument die diskrepanten Befunde zu der o. g. Literatur und den eigenen Ergebnissen erklären.

Gemäß den eigenen Untersuchungen und wie bereits berichtet<sup>145, 236</sup> ist die endotheliale Dysfunktion unabhängig vom Zeitpunkt der Untersuchung ein häufiger Befund nach HTx. Das Kriterium der endothelialen Dysfunktion wird deshalb für den Einsatz als früher Indikator einer hämodynamisch relevanten TVP als ungeeignet erachtet.<sup>145, 236</sup> Endothelzellen zeigen hinsichtlich Morphologie,<sup>237</sup> Wachstum,<sup>237</sup> Syntheseleistung,<sup>238</sup> Vorkommen bzw. Dichte bestimmter Oberflächenrezeptoren,<sup>239</sup> Genexpression und Zytokin-Sensibilität<sup>240</sup> nicht nur organspezifische Unterschiede sondern auch regionale Unterschiede zwischen terminaler Strombahn und großen Blutgefäßen und können dabei zusätzlich durch Erkrankungen wie Arteriosklerose oder Diabetes mellitus moduliert werden. Daher ist es nicht überraschend, dass die hier und auch andernorts<sup>42</sup> durchgeführten endothel-abhängigen Funktionstestungen nicht mit den mikrovaskulären Veränderungen in den Biopsieproben assoziiert waren. Ausstehende Follow up Untersuchungen werden zeigen, in wieweit die endotheliale Dysfunktion prädiktiven Wert für die weitere Entwicklung einer Mikrovaskulopathie besitzt, da sie im späteren Verlauf nach HTx sowohl für das Auftreten<sup>45</sup> als auch die Progression<sup>46</sup> einer epikardialen TVP relevant zu sein scheint. Auf der Basis der vorliegenden Daten sind mikrovaskuläre Architekturstörungen 4 Wochen und ein Jahr nach HTx ohne korrespondierende funktionelle Einbußen, sei es in der intrakoronaren dopplersonographischen Bestimmung der Endothelfunktion und CFR oder den untersuchten klinischen Parametern, wodurch sie sich in dieser Hinsicht nicht von der epikardialen Manifestation einer TVP unterscheiden.<sup>4, 137, 145, 174, 236</sup>

#### 3.11.2 Bedeutung der bioptischen Befunde der terminalen Strombahn für das endomyokardiale Remodelling

Endotheliale Veränderungen sind innerhalb des ersten Jahres nach HTx mit einem erhöhten (>7%) endomyokardialen Bindegewebsgehalt verbunden und in der frühen postoperativen Phase mit dem Befund einer stenosierenden Mikrovaskulopathie assoziiert. Letztere korreliert mit dem immunhistochemischen Nachweis von Alpha-Aktin, den Parametern der vaskulären Rejektion und geht dem endomyokardialen Fibrosierungsprozess voran. Die Regression medialer Veränderungen korreliert mit dem endothelialen Nachweis von CD34, während deren Progression durch eine erhöhte Reaktionsintensität für Alpha-Aktin charakterisiert ist.

Mikrovaskuläre Texturveränderungen nach HTx traten in dieser Studie häufig auf, und manifestierten sich in ca. der Hälfte der Fälle in Form prominenter Endothelzellen. Im Gegensatz zu bereits vorliegenden Daten,<sup>200</sup> war der Befund der "Endothelschwellung" nicht mit der Anhäufung von Immunglobulinen oder Komplement in der terminalen Strombahn verbunden. Dieser diskrepante Befund könnte zum einen methodisch bedingt sein, da Hammond und Kollegen<sup>200</sup> ihre Ergebnisse anhand fluoreszenzmikroskopischer Untersuchungen erhoben haben. Zum anderen wurden in dieser Studie Patienten über einen Zeitraum von 3 Jahren verfolgt, so dass die Ergebnisse dieser Querschnittsstudie eine Mischung aus frühen und späten Befunden darstellen. Überdies definierten die Kollegen die Endothelschwellung im Kontext der Vaskulitis mit lymphoiden Zellinfiltraten in den Blutgefäßwänden, die sich in den hier vorliegenden Untersuchungen nicht darstellen ließen.

Gemäß den hier präsentierten Ergebnissen waren die beobachteten Endothelveränderungen mit einem bindegewebigen Umbau des Endomyokards assoziiert. Endothelzellen sezernieren in Abhängigkeit von ihrer Lokalisation im Blutgefäßbett in Qualität und Quantität verschiedene Collagensubtypen. Dabei produzieren kapilläre Endothelien fast ausschließlich interstitielles Collagen III,<sup>238</sup> worauf auch die vorliegenden immunhistochemischen Untersuchungen hinweisen. Der Befund, dass Patienten mit prominenten Endothelzellen häufiger hypertrophierte Herzmuskelzellen aufwiesen könnte als Hinweis auf deren Rolle beim kardiomyozytären Remodelling gedeutet werden, das u. a. über Angiotensin II vermittelt wird.<sup>241, 242</sup> Ein anderer Erklärungsansatz wäre, dass die Zunahme des endothelialen Zelldurchmessers mit einer verminderten Sauerstoffversorgung des umliegendes Gewebes verbunden ist, dass sich in einer (interstitiellen) endomyokardialen Bindegewebsvermehrung und Hypertrophie der Herzmuskelzellen widerspiegelt.

In dieser Studie waren prominente Endothelzellen früh nach HTx mit dem Auftreten einer stenosierenden Mikrovaskulopathie verbunden. Diese Ergebnisse untermauern Berichte, dass

Endothelzellen eine zentrale Rolle in der Pathogenese der TVP spielen.<sup>57, 78, 87, 143</sup> Darüber hinaus wird das Phänomen der TVP als Ergebnis einer immunologischen Auseinandersetzung des Spenders mit dem neuen Organ verstanden,<sup>4, 73, 128</sup> wobei Zeitpunkt und Ausmaß des immunologischen Konfliktes eine Rolle zu spielen scheinen. Daher könnte bei Patienten mit Nachweis prominenter Endothelzellen früh nach HTx der Verlaufsbefund mit geringerer Reaktionsintensität für CD20 (B-Zellen) einen "immunologischen Potentialverlust" dieses Phänotyps reflektieren. Im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass B-Zell-tolerante Endothelien vermindert Adhäsionsmoleküle exprimieren,<sup>243</sup> welches unter Umständen die fehlende Korrelation endothelialer und medialer Veränderungen im 1-Jahres-Follow up erklärt. Obwohl der morphologische Befund prominenter Endothelzellen im 2. Follow up nicht direkt mit der stenosierenden Mikrovaskulopathie assoziiert war, zeigten diese prominenten Endothelien eine geringere bioptische Reaktivität für CD31. CD31 ist ein Zell-Zell-Adhäsionsmolekül, und besitzt regulatorische Funktionen im Bereich der Angiogenese.<sup>244</sup> Die Blockade von CD31 hemmt die Neovaskularisierung,<sup>244</sup> so dass eine verminderte CD31-Reaktivität die verminderte Bereitschaft der Endothelien zur Kollateralbildung widerspiegeln könnte. Dass eine verminderte Kollateralisierung bzw. Angiogenese bei der stenosierenden Mikrovaskulopathie eine Rolle spielt, zeigte die verminderte Reaktivität der betroffenen Blutgefäße auf CD34, denn CD34-positive Zellen verfügen über ein hohes angiogenetisches Potential.<sup>140, 245</sup>

In der vorliegenden Studie waren früh nach HTx 40% und am Ende des ersten Jahres über 60% des untersuchten Kollektivs von mikrovaskulären luminalen Stenosen durch Veränderungen der Media betroffen. Dabei war die Inzidenz der stenosierenden Mikrovaskulopathie ein Jahr nach HTx mit 8% betroffener Fälle gering. Wie bereits beschrieben,<sup>8, 199</sup> zeigte die Reaktionsintensität für Alpha-Aktin an, dass die stenosierende Mikrovaskulopathie durch eine Proliferation vaskulärer glatter Muskelzellen im Bereich der Media charakterisiert ist. Eine Progredienz medialer Veränderungen fand sich in fast 40% der Fälle, und war ebenfalls durch eine Proliferation glatter Muskelzellen bedingt. Im ersten Eindruck konträr erscheint der Befund, dass Patienten mit progredienten Veränderungen der Media ein Jahr nach HTx in der Voruntersuchung eine geringere bioptische Reaktionsintensität für CD68 (Makrophagen) aufwiesen. Makrophagen sind als wichtige Promotoren der TVP beschrieben,<sup>17, 55</sup> allerdings haben die freigesetzten Zytokine eine kurze Halbwertzeit und stehen daher in engem zeitlichen Zusammenhang mit der Entwicklung vaskulärer Veränderungen. Da es sich bei diesen Fällen vornehmlich um eine neu aufgetretene stenosierende Mikrovaskulopathie handelte, scheint dieses Patientenkollektiv eine Art "Late-Onset-" Mikrovaskulopathie dazustellen, das im Gegensatz zum "Early-Onset-" Phänotyp durch eine niedrige Frequenz an Makrophagen früh nach HTx gekennzeichnet ist und bei der andere, noch zu bestimmende ätiopathogenetische Faktoren eine Rolle spielen.

Nicht-stenosierende Veränderungen der Media waren nicht mit dem Auftreten einer stenosierenden Mikrovaskulopathie assoziiert. Folglich entstehen nach HTx in der terminalen Strombahn auch vaskuläre Veränderungen, die als intermediäre "Läsionen" zu bezeichnen sind und wie beschrieben<sup>5, 7</sup> Ausdruck eines transplantationsassoziierten, mikrovaskulären Remodellings sind. In wieweit diese intermediären Veränderungen das Auftreten einer stenosierenden Mikrovaskulopathie im weiteren Verlauf nach HTx bedingen bleibt zum jetzigen Zeitpunkt offen. Diese intermediären Veränderungen waren überdies im weiteren Verlauf mit einer verstärkten endomyokardiale Reaktionsintensität für den Collagensubtyp IV (Basalmembran) verbunden. Da Kapillaren diesen Collagensubtyp nicht sezernieren<sup>238</sup> ist dieser Befund anscheinend als typischer adaptiver Remodellingprozess nach HTx einzustufen.

Wenn auch nur zu einem geringen Anteil (14%) zeigten sich Fälle, die eine Regression der Verdickung im Bereich der Media aufwiesen. Diese waren durch eine verminderte Reaktivität für Alpha-Aktin gekennzeichnet. Bei der Mikrovaskulopathie kommt es nicht nur zu einer Proliferation von glatten Muskelzellen in präexistenten Arteriolen sondern auch zu einem morphologischen Phänotypenwechsel von Kapillaren zu Alpha-Aktin-positiven Blutgefäßen.<sup>8</sup> Alpha-Aktin wird nicht nur von vaskulären glatten Muskelzellen sondern auch von Perizyten des kontraktilen Phänotype exprimiert.<sup>246, 247</sup> Diese Expression wird durch bestimmte Mediatoren wie TGF-beta 1 induziert,<sup>247</sup> der u. a. von Makrophagen sezerniert wird.<sup>17, 55</sup> Daher könnten die vorliegenden Ergebnisse auf einem unter dem Einfluss des vorherrschenden lokalen Zytokinmusters reversiblen Phänotypenwechsel Alpha-Aktin-positiver Perizyten vom kontraktilen Typ hin zum Alpha-Aktin-negativen proliferierenden Phänotyp beruhen. Da Perizyten eine wichtige Leitstruktur für sprossende Endothelzellen sind,<sup>248</sup> ist diese Hypothese kohärent mit der Beobachtung, dass die Regression der Mediaverdickung mit dem Vorherrschen CD34-positiver Endothelien verknüpft war, die wie oben bereits genannt eine wichtige Rolle in der Angiogenese innehaben.<sup>140, 245</sup>

Wie zuvor berichtet<sup>5</sup> zeigte sich innerhalb des ersten Jahres nach HTx eine Zunahme des endomyokardialen Bindegewebsanteils von 7,8% auf 8,5%, wobei der mittlere Narbenanteil etwa konstant bei 30% blieb. Patienten, die 4 Wochen nach HTx morphologische Veränderungen der Media aufwiesen, zeigten in ihren darauffolgenden Biopsien einen erhöhten Anteil endomyokardialen Bindegewebes. Daraus ist zu schließen, dass vaskuläre Texturstörungen und insbesondere die stenosierende Manifestationsform mit konsekutiven Architekturstörungen des kardiomyozytären Synzytiums vergesellschaftet sind. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit bereits publizierten Daten, die korrespondierende Befunde bei mikrovaskulären<sup>82</sup> und epikardialen Blutgefäßveränderungen nach HTx zeigen konnten.<sup>38</sup>

Darüber hinaus bestätigen die vorliegenden Untersuchungen, dass die humorale Rejektion mit dem Phänomen der Mikrovaskulopathie verknüpft ist.<sup>61, 125, 126</sup> Da nicht-stenosierende Veränderungen der Media nicht mit dem konsekutiven Auftreten einer stenosierenden Mikrovaskulopathie verbunden waren, ist es schlüssig, dass diese intermediären "Läsionen" mit einer verminderten Reaktionsstärke für IgG im weiteren Zeitverlauf nach HTx assoziiert waren. Andere Autoren fanden allerdings keinen Zusammenhang zwischen der epikardialen TVP und der Präsenz humoraler Faktoren,<sup>64</sup> allerdings handelte es sich hier um serologische Untersuchungen ohne korrespondierende myokardiale Gewebeproben.

Zusammenfassend sind mikrovaskuläre Architekturstörungen nach HTX häufig und gehen nicht zwangsweise mit der Ausbildung luminaler Stenosen im Bereich der terminalen Strombahn einher. Die stenosierende Manifestationsform ist durch eine Proliferation glatter Muskelzellen bedingt, die früh nach HTx in enger Beziehung zu morphologischen Veränderungen der Endothelzellen steht. Die stenosierende Mikrovaskulopathie ist darüber hinaus durch einen Verlust des adaptiven vaskulären Remodellings gekennzeichnet, der sich in einem verminderten Potential zur Kollateralisierung manifestiert.

## 3.11.3 Beziehungen zwischen morphologischen Erscheinungsformen im mikrovaskulären und epikardialen Strombett

In den vorliegenden Untersuchungen zeigte sich, dass morphologische Veränderungen der terminalen Strombahn mit bestimmten koronarangiographischen Manifestationsformen der epikardialen TVP assoziiert sind, jedoch nicht in der frühen Phase sondern erst ab dem 1. Jahr nach HTx. Das angiographische Kriterium der peripheren Obliterationen wurde als Indikator des generalisierten Blutgefäßbefalls bestätigt, während sich bis auf das IVUS-Kriterium der diffusen Läsionsverteilung keine Korrelationen zwischen den Parametern der epikardialen Manifestationsform und den Veränderungen der terminalen Strombahn fanden.

Die Sensitivität der koronarangiographischen Technik in der Diagnostik einer epikardialen TVP wird kritisch betrachtet bzw. als unzureichend bewertet.<sup>88, 178</sup> Dieses ist vor allem darauf zurückzuführen, dass die konventionelle Befundung nach Lokalisation und Ausmaß epikardialer Stenosen nicht der Anforderung gerecht wird, diffuse entlang der gesamten Blutgefäßwand verteilte Läsionen sicher zu diagnostizieren.<sup>14, 18, 42, 44</sup> Allerdings ist die Koronarangiographie derzeit die einzige verfügbare Methode, die in einem einzigen Untersuchungsgang die Morphologie der gesamten epikardialen Strombahn erfasst und dabei gleichzeitig die Bewertung von Kollateralkreisläufen zulässt. Der vor diesem Hintergrund ergänzte Parameter der peripheren Obliterationen zeigte ein Jahr nach HTx eine hochsignifikante Korrelation mit der Ausdehnung der TVP auf die terminale Strombahn und vor allem auch mit der Inzidenz einer stenosierenden Mikrovaskulopathie im 2. Follow up. Darüber hinaus gingen die Veränderungen der Media in der terminalen Strombahn den koronarangiographisch diagnostizierbaren Läsionen voran. Die Angaben in der Literatur über das gleichzeitige Vorkommen und der gegenseitigen Bedingtheit epikardialer und mikrovaskulärer Läsionen bei TVP sind strittig (s. **Tabelle 1**). Dieses ist vor allem auf die unterschiedlichen methodischen Ansätze zurückzuführen, und zwar zum einen auf die Auswahl des diagnostischen Instruments und zum anderen auf die Auswahl der Bewertungskriterien zur Beurteilung der vaskulären Läsionen.

Die Frequenz typischer Stanford-Läsionen in der Koronarangiographie war 4 Wochen nach HTx niedrig und belief sich auf <10%. In der darauffolgenden Untersuchung zeigte sich eine zunehmende Häufigkeit von Stanford-Läsionen, vornehmlich der Typ B2-Läsionen mit einer Inzidenz von 34% und einer Prävalenz von 39%. Diese Befunde sind im Einklang mit der Literatur, wobei der Vergleich aufgrund der Datenlage nur mit Querschnittsstudien erfolgen kann.<sup>18, 119, 132</sup> Im Gegensatz zur Stanford Typ B1-Läsion mit proximal weitem Blutgefäßlumen charakterisiert die Typ B2-Läsion ein inadäquates Remodelling, mit bereits proximal beginnender Verengung des Blutgefäßquerschnitts.<sup>54</sup> Dieser Manifestationstyp der epikardialen TVP war signifikant mit der Inzidenz und Progression der stenosierenden Mikrovaskulopathie verbunden und sollte daher neben dem Kriterium der peripheren Obliterationen in die routinemäßige Befundung koronarangiographischer Untersuchungen von HTx-Patienten integriert werden. Darüber hinaus sollten weitere Verlaufsstudien die prognostische Relevanz dieser Parameter für das Überleben nach HTx evaluieren, und in wieweit diese epikardialen Manifestationsformen die Letalität der stenosierenden Mikrovaskulopathie, wie sie in den retrospektiven Untersuchungen dargelegt wurde, eventuell potenzieren.

Das Kriterium der Gefäßverjüngung (Tapering) als Indikator früher epikardialer Läsionen war mit dem Auftreten einer stenosierenden Mikrovaskulopathie im 1. Follow up invers korreliert, da Patienten mit stenosierenden Mediaveränderungen früh nach HTx häufiger eine normale Gefäßverjüngung in der darauffolgenden Jahresuntersuchung zeigten. Da die Bewertung des Tapering als Parameter des epikardialen Blutgefäßbefalls konzipiert wurde, bestätigen diese Ergebnisse, dass die epikardiale Gefäßverjüngung Art und Ausmaß des mikrovaskulären Befalls innerhalb des ersten Jahres nach HTx nicht erfasst.

Anhand der IVUS-Untersuchungen zeigten die höhergradigen Stanford-Klassen III und IV bereits früh nach HTx eine Prävalenz von 50%, mit einer Zunahme auf fast zwei Drittel betroffener Patienten am Ende des ersten postoperativen Jahres. Diese Ergebnisse bestätigen publizierte IVUS-gestützte Untersuchungen, anhand derer eine hohe Prävalenz vaskulärer Läsionen bereits früh nach HTx sowie deren progredienter Verlauf beschrieben ist<sup>14, 134, 146</sup> Ebenso bekannt ist die hohe Prävalenz diffus verteilter Läsionen, die sich initial bei fast einem Drittel des Kollektivs zeigten und in der 1-Jahres-Untersuchung fast 50% der Patienten betrafen.<sup>84</sup> Da es sich hier um ein morphologisches Kriterium der epikardialen TVP handelt, erscheint der Befund, dass fokal und polyfokal verteilte Läsionen 4 Wochen nach HTx mit bioptischen Endothelveränderungen in der Verlaufsuntersuchung assoziiert waren vom methodischen Ansatz nicht schlüssig. Patienten mit Endothelveränderungen in der 1-Jahres-Untersuchung zeigten allerdings auch häufiger ein normales Tapering, so dass diese Sachverhalte möglicherweise auf eine diskordante Befundprogression in der epikardialen und terminalen Strombahn hinweisen.<sup>16, 106</sup> Fast zwei Drittel der Patienten zeigten bei der Eingangsuntersuchung 4 Wochen nach HTx importierte Koronarläsionen. Bei diesen Patienten wurde häufiger in der zeitgleich entnommenen Biopsieprobe der Befund einer stenosierenden Mikrovaskulopathie erhoben. Die Induktion einer epikardialen TVP durch eine vom Spender importierte koronare Arteriosklerose wird in der Literatur diskutiert,<sup>47, 144, 160</sup> und spielt eventuell auch eine Rolle bei der Manifestation einer stenosierenden Mikrovaskulopathie. Da allerdings die Beziehung zur stenosierenden Mikrovaskulopathie im 2. Follow up nicht mehr darstellbar war, ist dieser Befund möglicherweise auf eine Überlagerung importierter und neu entstandener Läsionen zurückzuführen.

Zusammenfassend ist die koronarangiographische Untersuchung herztransplantierter Patienten ein adäquates Instrument, ab dem 1. Jahr nach HTx einen generalisierten Blutgefäßbefall der TVP zu diagnostizieren. Darüber hinaus weisen Stanford Typ B2-Läsionen eine enge Beziehung zur Progredienz mikrovaskulärer Veränderungen im Bereich der Media auf und sollten neben dem Kriterium der peripheren Obliterationen in die routinemäßige Befundung koronarangiographischer Untersuchungen bei HTx-Patienten integriert werden. Die postulierte mangelhafte Empfindlichkeit der Koronarangiographie für die Diagnose einer TVP ist auf den Einsatz inadäquater Graduierungssysteme

131

zurückzuführen, die auf der Klassifikation von Läsionen der koronaren Arteriosklerose nichttransplantierter Herzen basieren und den diffusen Gefäßbefall nicht erfassen können. Der IVUS ist ausschließlich als diagnostisches Instrument der epikardialen TVP zu verstehen und besitzt unter den aktuellen Anwendungsbedingungen keine Aussagekraft im Hinblick auf einen generalisierten Blutgefäßbefall bei TVP. Damit muss sein derzeit eingeforderter Einsatz als zwingendes Kriterium zur Validierung ätiopathogenetischer und therapeutischer Studien zur TVP nach HTx generell in Frage gestellt werden.

## 3.11.4 Risikofaktoren für die Entwicklung mikrovaskulärer und generalisierter Blutgefäßveränderungen nach Herztransplantation

In der vorliegenden Untersuchung wurde gezeigt, dass sowohl die mikrovaskuläre als auch generalisierte Manifestationsform der TVP immunologisch und nicht-immunologisch bedingte bzw. modulierte Phänomene darstellen. Im Mittelpunkt der kausalpathogenetischen Vorgänge steht die Endothelzelle, an der alle hier bestimmten Risikofaktoren angreifen. Die im folgenden diskutierten Risikofaktoren und ihre Verkettung mit den morphologischen Phänomenen der TVP sind in der **Abbildung 23** (s. S. 139) zusammengetragen.

In dieser Studie war die Inzidenz milder zellulärer Rejektionen niedrig und betraf im 1. Follow up ca. ein Drittel und im 2. Follow knapp 20% der untersuchten Patienten. Dasselbe fand sich bei der Inzidenz des Quilty, der in 12-14% der Biopsieproben diagnostiziert wurde. Sowohl für die akute zelluläre Rejektion<sup>4, 71, 178</sup> als auch für den Quilty<sup>128, 158</sup> sind kausalpathogenetische Beziehungen zur epikardialen TVP beschrieben, die sich damit in das Konstrukt der immunologisch bedingten Genese der TVP einfügen.<sup>4, 57, 73, 178</sup> Im Gegensatz dazu konnte in der prospektiven Analyse ein solcher Zusammenhang nicht dargestellt werden. Aufgrund der unterschiedlich definierten morphologischen Korrelate der epikardialen und mikrovaskulären TVP<sup>5, 8, 109, 199</sup> könnten den diskrepanten Befunden unterschiedliche Gewichtungen von pathogenetischen Mechanismen zugrunde liegen. Allerdings zeigte sich auch in den eigenen retrospektiven Untersuchungen ein signifikanter Zusammenhang zwischen der stenosierenden Mikrovaskulopathie und dem Auftreten von zellulären Rejektion bzw. dem Quilty (s. Kapitel 2.5). Da in diesen Analysen jedoch aufgrund des retrospektiven Studiendesigns die kumulative Jahresprävalenz der beiden Immunphänomene bewertet wurde, stehen diese Ergebnisse denen der prospektiven Untersuchungen nicht entgegen, in denen ein zeitgleicher Zusammenhang bzw. die reziproke Beziehung aufeinanderfolgender Befunde überprüft wurde. Allerdings zeigte sich in der prospektiven Untersuchung ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten endothelialer Veränderungen und dem bioptischen Nachweis akuter zellulärer Rejektionen. Gemäß den vorliegenden Ergebnisse und wie bereits bei der epikardialen TVP beschrieben spielen Endothelzellen eine zentrale Rolle bei der Entwicklung dieser Erkrankung.<sup>4, 57, 73, 143</sup> Daher ist die Beziehung der zellulären Rejektion zur TVP über das Bindeglied der Endothelzelle zu suchen, das in der vorliegenden Untersuchung demonstriert werden konnte. Doch dieser Zusammenhang verliert sich am Ende des ersten Jahres nach HTx und scheint durch andere Mechanismen ersetzt oder zusätzliche ergänzt zu werden.

Im 1. Follow up war das Auftreten von Endothelzellveränderungen mit einer verstärkten Thrombozytenaggregation verbunden, die im 2. Follow up direkt mit der de-novo Entwicklung einer stenosierenden Mikrovaskulopathie sowie der Progredienz von Veränderungen der Media assoziiert war. Darüber hinaus ist wahrscheinlich der Befund, dass Patienten mit prominenten Endothelzellen häufiger unter einer ACE-Hemmer-Therapie standen ebenfalls in den Kontext der Thrombozytenaggregabilität einzuordnen. ACE-Hemmer verhindern die Umwandlung von Angiotensin I in Angiotensin II, und zeigten im Tierversuch thrombozytenaggregationshemmende Wirkung. Allerdings hemmen sie auch gleichzeitig den Abbau von Bradykinin, dem eine stimulierende Wirkung auf die Proliferation glatter Muskelzellen nachgewiesen werden konnte.<sup>249, 250</sup> Da die Einnahme von ACE-Hemmern auch mit einer erhöhten Thrombozytenaggregation im TAT einherging, liegen nach HTx möglicherweise eine Verschiebung von Gleichgewichten oder sogar "paradoxe Reaktionen" vor, die noch genauer untersucht werden müssen. Der protektive Effekt von ACE-Hemmern auf die Entwicklung einer TVP ist bislang als Monotherapie nur im Tiermodell belegt,<sup>15, 107</sup> während sich beim Menschen die Kombination aus ACE-Hemmern und Kalziumantagonisten als effektiv erwies.<sup>36</sup> Dieser Befund unterstützt experimentelle Untersuchungen, in denen Kalziumantagonisten und nicht ACE-Hemmer einen inhibitorischen Effekt auf die Thrombozytenaggregation zeigten.<sup>251</sup> Die anscheinend diskrepanten Befunde zu den eigenen retrospektiven Untersuchungen lassen sich am ehesten dadurch erklären, dass dort bei der antihypertensiven Medikation nicht zwischen verschiedenen Substanzklassen unterschieden wurde. Thrombozyten scheinen demnach sowohl früh als auch spät nach HTx nicht nur Promotoren sondern im weiteren Verlauf auch den progredienten mikrovaskulären Befall zu induzieren. Thrombozyten sezernieren u. a. PDGF, ein potentes Mitogen für vaskuläre glatte Muskelzellen,<sup>167</sup> dessen Bedeutung für die Entwicklung der epikardialen TVP bereits belegt wurde.<sup>40, 70,</sup> <sup>99, 118</sup> Die Bedeutung von PDGF in der Pathogenese der stenosierenden Mikrovaskulopathie lässt sich weiter durch die Beobachtung untermauern, dass der Befund der mikrovaskulären luminalen Stenose sowohl 4 Wochen als auch ein Jahr nach HTx mit einer Proliferation glatter Muskelzellen assoziiert war, die sich in der starken immunhistochemischen Reaktionsintensität für Alpha-Aktin und PCNA belegen ließ. Dagegen gingen Endothelveränderungen nicht mit dem vermehrten Nachweis Alpha-Aktin positiver Zellen in der terminalen Strombahn einher und stellten in keiner der untersuchten Proben das morphologische Korrelat der mikrovaskulären Stenose dar. Dieser Befund bestätigt publizierte Daten,<sup>5, 8, 199</sup> dass die Mikrovaskulopathie als eine Erkrankung der Media zu verstehen ist und neben einer Proliferation von präexistenten glatten Muskelzellen von einem Phänotypenwechsel der Kapillaren hin zu Alpha-Aktiven positiven Blutgefäßen begleitet wird. In diesen Zusammenhang ist auch der protektive Effekt von Everolimus einzuordnen, der die Proliferation glatter Muskelzellen hemmt.<sup>74</sup> Dieses Medikament scheint daher nicht nur auf epikardialer<sup>43, 74</sup> sondern auch gemäß der hier vorliegenden Untersuchungen auch auf mikrovaskulärer Ebene wirksam zu sein.

Ein weiterer wichtiger Faktor bei der Mikrovaskulopathie scheint das thrombogene Milieu zu sein, mit dem sie assoziiert ist. Daran ist wahrscheinlich nicht nur eine verstärkte Thrombozytenaggregation sondern auch der Verlust gerinnungshemmender Substanzen beteiligt. Diese Hypothese wird dadurch gestützt, dass die stenosierende Mikrovaskulopathie mit einem verminderten AT-III-Spiegel assoziiert war, ein Befund der in der Literatur vorbeschrieben ist.<sup>138, 142</sup> In dieses Konstrukt fügt sich auch der Befund eines erhöhten Fibrinogenspiegels im 2. Follow up bei Vorliegen von Endothelveränderungen ein, der vermutlich das thrombogene Milieu aggraviert. Erhöhte Fibrinogenspiegel wurden bei der epikardialen TVP in Verbindung mit dem Schweregrad intimaler Läsionen gezeigt, und die konsekutive Ablagerung von Fibrin als potentieller Faktor bei der TVP diskutiert.<sup>31</sup>

Der morphologische Befund der prominenten Endothelzellen scheint aber nicht nur einen "thrombogenen" sondern auch einen "immunogenen Phänotyp" der Endothelzellen zu repräsentieren. Endothelzellen agieren nach HTx als antigenpräsentierende Zellen.<sup>4, 57, 73, 143</sup> Da die Stärke der Immunantwort mit zunehmendem Lebensalter abnimmt ("Immunseneszenz"),<sup>207</sup> wäre dies eine Erklärung dafür, warum die Ausprägung von Endothelveränderungen negativ mit dem Spenderalter korreliert war. Darüber hinaus war das Auftreten von endothelialen Veränderungen mit bestimmten Immunzell-Konstellationen im zytoimmunologischen Monitoring verbunden. T-Helferzellen erkennen bei der Auslösung einer Immunantwort fremde HLA Klasse II-Moleküle,<sup>25, 73, 92</sup> die auch auf Endothelzellen exprimiert werden können.<sup>57, 78</sup> Daher wäre bei TVP eine erhöhte Anzahl von T-Helferzellen im peripheren Blut als Reaktion auf den antigenen Stimulus zu erwarten. Doch genau das Gegenteil war der Fall. Endothelzellveränderungen und auch die stenosierende Mikrovaskulopathie waren negativ mit der absoluten Anzahl von T-Helferzellen im vorhergehenden Follow up korreliert. Die inverse Beziehung von im peripheren Blut nachweisbaren Immunzellen mit dem manifesten immunologischen Konflikt innerhalb des transplantierten Organs wurde bereits für die akute zelluläre Rejektion belegt.<sup>252</sup> Ursächlich dafür wurde ein vermehrter Umsatz bzw. Verbrauch oder ein selektives Homing dieser Zellen in sekundäre lymphatische Organe vermutet, wo sie die Differenzierung von T-Zellen induzieren.<sup>252</sup> Ein anderer Erklärungsansatz wäre die transplantatvermittelte erhöhte Empfindlichkeit von T-Helferzellen im apoptotischen Prozess zugrunde zu gehen.<sup>124</sup> Gemäß den vorliegenden Ergebnissen sind anscheinend ähnliche Mechanismen auch bei der Mikrovaskulopathie wirksam.

Die Bedeutung des immunologischen Konflikts als wesentliche Schaltstelle bei der Entwicklung einer Mikrovaskulopathie wird durch den Befund untermauert, dass sie nicht nur mit der Anzahl aktivierter T-Lymphozyten sondern auch wie vorbeschrieben mit dem Nachweis von NK-Zellen im zytoimmunologischen Monitoring assoziiert war.<sup>50, 124</sup> Dabei scheinen NK-Zellen vornehmlich in der frühen Phase und aktivierte T-Lymphozyten in der späten Phase nach HTx zu agieren. NK-Zellen sind Effektoren der unspezifischen Immunabwehr und entfalten ihre Wirkung einerseits über die Zytolyse und andererseits über die Induktion der Apoptose.<sup>124, 253</sup> Die Bedeutung der Apoptose bei der Entwicklung einer epikardialen TVP wird diskutiert,<sup>27, 57, 124</sup> und scheint auch bei der mikrovaskulären Manifestationsform eine Rolle zu spielen. Die nach Apoptose verbleibenden Zellpartikel werden von Makrophagen phagozytiert,<sup>57, 253</sup> die ihrerseits durch die Sekretion von Zytokinen weitere Immunzellen anlocken können aber auch regulatorische Effekte auf ortständige Zellen ausüben.<sup>122</sup> Die Bedeutung von Makrophagen und deren Zytokinen bei der Entwicklung einer TVP ist belegt,<sup>7, 78, 122</sup> wobei auf der Basis der hier vorliegenden Befunde auch deren Funktion bei der Phagozytose Komplement-opsonierter körperfremder Zellen<sup>80, 253</sup> als mechanistisch bedeutsam angenommen werden kann.

Im Zusammenhang mit dem lokalen Zytokinmilieu ist wahrscheinlich auch die negative Korrelation der stenosierenden Mikrovaskulopathie im 2. Follow up mit der Dauer des Hirntods zu betrachten. Da die Dauer des Hirntods weder mit dem Neuauftreten noch der Progression stenosierender medialer Veränderungen im 2. Follow up korreliert war, ist der zuvor genannte statistische Zusammenhang auf Patienten zu beziehen, die bereits 4 Wochen nach HTx eine stenosierende Mikrovaskulopathie aufwiesen und im 1-Jahres-Follow up einen persistierenden Befund zeigten. Die plötzliche intrakranielle Druckzunahme beim sog. "explosiven Hirntod" ist mit einer ausgeprägten Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen und Zelladhäsionsmolekülen verbunden, und konnte bereits mit der epikardialen TVP im IVUS korreliert werden.<sup>162</sup> Zwar konnte bei der stenosierenden Mikrovaskulopathie kein direkter Zusammenhang mit der Art des Hirntods nachgewiesen werden, doch scheint dessen Dauer diesen Zusammenhang zu reflektieren. Dass sich die errechnete Korrelation im 2. Follow up als negativ darstellte könnte als indirekter Beweis zu werten sein. Einen ähnlichen Sachverhalt spiegelt die inverse Korrelation der neu aufgetretenen stenosierenden Mikrovaskulopathie im 2. Follow up mit dem Nachweis von CD68 (Makrophagen) im 1. Follow up wider. Werden Makrophagen als wichtige mechanistische Einheiten bei der Entwicklung einer Mikrovaskulopathie angenommen, ist dieser negative Zusammenhang mit dem Neuauftreten vaskulärer Veränderungen in der nachfolgenden Untersuchung zu fordern, denn sonst wären die vaskulären Veränderungen bereits zeitlich konkordant aufgetreten. Warum der Nachweis einer direkten Korrelation nicht gelang bleibt offen, er könnte jedoch durch die gegenseitige Beeinflussung und Rekrutierung von Immunzellen maskiert werden.

Die Bedeutung viraler Infektionen für die Entwicklung einer TVP im epikardialen Strombett wird kontrovers diskutiert,<sup>19, 90, 105, 254</sup> während für die terminale Strombahn bis heute keine publizierten Daten verfügbar sind. In den eigenen Untersuchungen zeigte sich, dass ein Jahr nach HTx das Auftreten endothelialer Veränderungen aber auch die Neuentwicklung einer stenosierenden Mikrovaskulopathie mit dem bioptischen Nachweis von PVB19 verbunden waren. Darüber hinaus war auch der bioptische Nachweis von EBV mit der Entwicklung einer stenosierenden Mikrovaskulopathie assoziiert, wobei die weitere Analyse seine potentielle Bedeutung bei der Progression medialer Veränderung verdeutlichte. Da sowohl PVB19 als auch EBV erst ein Jahr nach HTx statistische Relevanz in Bezug auf die Veränderungen der terminalen Strombahn zeigten, sind sie entweder als ausschließlich akzelerierende Faktoren zu betrachten, oder aber als Initiatoren einer "Late-Onset" Mikrovaskulopathie. Letztere Hypothese wäre durch den Befund gefestigt, dass die Anzahl bioptisch nachweisbarer viraler Genome ein Jahr nach HTx mit der Neuentwicklung einer stenosierenden Mikrovaskulopathie assoziiert war.

In der vorliegenden Untersuchung zeigte sich, dass erhöhte Cyclosporin A-Blutspiegel sowie die Cortisondosis mit der Inzidenz und Progression der stenosierenden Mikrovaskulopathie assoziiert waren. Die Cyclosporin A-Therapie wird als Risikofaktor der epikardialen TVP kontrovers diskutiert.<sup>85, 91, 108</sup> Der mechanistische Zusammenhang ist vermutlich in der cyclosporin-induzierten endothelialen Dysfunktion,<sup>255, 256</sup> Induktion der Proliferation<sup>199</sup> bzw. einer Dysfunktion<sup>255, 257</sup> glatter Muskelzellen sowie der Induktion von Autoimmunmechanismen<sup>52</sup> zu suchen. Zusätzlich konnte demonstriert

135

werden, dass Cyclosporin einen hemmenden Effekt auf die Vaskulogenese in Form einer Reduktion und Wachstumshemmung vaskulärer Progenitorzellen in vitro besitzt,<sup>58</sup> und den natürlichen Lebenszyklus von NK-Zellen verlängert.<sup>258</sup> Die verminderte Kollateralenbildung ist charakteristisch im Krankheitsbild der TVP,<sup>18</sup> und spiegelt sich in den eigenen Untersuchungen in einer verminderten bioptischen Reaktionsintensität für CD34 wider. Die Relation einer chronischen Cortisontherapie mit der epikardialen TVP wird dagegen auf die steroid-abhängige Induktion eines prothrombogenen Milieus zurückgeführt,<sup>139</sup> das gemäß der hier vorliegenden Untersuchungen von zentraler Bedeutung für die Entwicklung einer stenosierenden Mikrovaskulopathie ist. Klinische Daten zeigen in diesem Zusammenhang höhere Überlebensraten nach HTx unter steroidefreier Immunsuppression.<sup>32</sup>

Kontroverse Berichte liegen über die Rolle von HLA-Missmatchen<sup>90, 91, 127, 129</sup> und HLA-assoziierten Antikörpern bei der Entwicklung einer epikardialen TVP vor.<sup>25, 127</sup> Letzteres wurde in der vorliegenden Studie nicht gesondert untersucht, jedoch könnten die bestimmten HLA-Missmatche als Risikofaktoren für die Ausprägung mikrovaskulärer Veränderungen ein indirekter Hinweis auf einen solchen ätiopathogenetischen Zusammenhang sein. **Tabelle 68 und Tabelle 69** fassen eine Auswahl aktueller Literatur zu HLA-assoziierten Autoimmunerkrankungen in Bezug zu den hier erhobenen Ergebnissen zusammen. Prädisponierende Genloci für das Auftreten vaskulärer Erkrankungen<sup>259-261</sup> konnten nicht bestätigt werden, allerdings sind diese Untersuchungen ausschließlich an nicht-transplantierten Patienten erfolgt. Das Missmatch bei HLA-B8 dagegen wurde bei TVP bereits vorbeschrieben.<sup>129</sup>

Erkrankung	MM HLA-Locus	Mikrovaskulopathie	Generalisierter Befall
Polygladuläre Autoimmunität <sup>262</sup>	HLA A3	+	Ø
Multiple Sklerose <sup>263</sup>			
Diabetes mellitus Typ I <sup>264</sup>	HLA-A9	Ø	+
Autoimmunthyreoiditis <sup>262</sup>			
Sjögren-Syndrom <sup>265</sup>			
Aortitis $(\downarrow)^{266}$	HLA A19	+	Ø
Autoimmunthyreoiditis <sup>267</sup>			
Autoimmunhepatitis <sup>268</sup>	HLA B8	+	Ø
Polygladuläre Autoimmunität <sup>262</sup> , SLE <sup>269</sup>			
Autoimmunhämolytische Anämie <sup>270</sup>			
Diabetes mellitus Typ I <sup>264</sup>			
Autoimmunthyreoiditis <sup>267</sup>			
Psoriasis <sup>271</sup>	HLA B13	+	Ø
Dilatative Kardiomyopathie <sup>272</sup>	HLA B15	+	Ø
Sklerodermie <sup>273</sup>			
Chronische Urtikaria <sup>274</sup>	HLA Bw4	+	Ø
Hashimoto Thyreoiditis <sup>275</sup> , PBC <sup>276</sup>	HLA DR53	+	Ø

Tabelle 68:	HLA-Missmatch bei mikrovaskulärer und gene	ralisierter TVP nach HTx
-------------	--	--------------------------

+, positiver Einfluss; Ø, kein Einfluss; ↓; verminderte Frequenz; HLA, Human Leukocyte Antigen; PBC, primär biliäre Zirrhose; SLE, systemischer Lupus erythemathodes

Erkrankung	HLA-Locus	Mikrovaskulopathie	Generalisierter Befall
Polygladuläre Autoimmunität <sup>262</sup>	HLA A3	+	Ø
Multiple Sklerose <sup>263</sup>			
Sneddon's Syndrom <sup>277</sup>	HLA Bw6	+	Ø
Kollagen-assoziierte Arthritis <sup>278</sup>	HLA DR1	+	Ø
Allergische Enzephalomyelitis <sup>279</sup>			
Diabetes mellitus Typ I <sup>280</sup> ; ITP <sup>281</sup>	HLA DR4	+	Ø
Kollagen-assoziierte Arthritis <sup>278</sup>			
Autoimmunhepatitis <sup>282</sup>			
Sklerodermie <sup>283</sup>	HLA DR5	+	Ø
Autoimmunthyreoiditis <sup>284</sup>			
Nicht-zirrhotische portale Fibrose <sup>285</sup>	HLA DR7	+	Ø
Psoriasis <sup>271</sup>			
Sjögren-Syndrom <sup>286</sup>	HLA DR52	+	Ø
Autoimmunhepatitis <sup>282</sup>			
Peyronie's Syndrom <sup>287</sup>	HLA DRq5	+	Ø
Multiple Sklerose <sup>288</sup>	HLA DRq6	Ø	-

#### Tabelle 69: HLA-Loci bei mikrovaskulärer und generalisierter TVP nach HTx

+, positiver Einfluss; –, negativer Einfluss, Ø, kein Einfluss; HLA, Human Leukocyte Antigen; ITP, idiopathische thrombozytopenische Purpura

Bezüglich der generalisierten TVP zeigte sich im 1. Follow up eine positive Korrelation zum Nikotinkonsum des Spenders, die genauso wie die Assoziation mit dem Spenderalter importierte Läsionen vermuten lässt. Diese Überlegungen lassen sich durch publizierte Daten erhärten, die eine Vermischung importierter und neu entstandener Läsionen früh nach HTx beschreiben.<sup>47</sup> Der Serumkreatininspiegel als Ausdruck einer verminderten Nierenfunktion mit Akkumulation von Magnesium und Phosphat<sup>289</sup> zeigte nur im 1. Follow up Relevanz, und könnte erneut auf die Bedeutung koexistenter nicht-immunologischer Phänomene hinweisen, deren Einfluss allerdings auf die frühe Phase nach HTx begrenzt zu sein scheint.

Als immunologische Faktoren bei der generalisierten Form der TVP wurden die NK-Zellen bestätigt.<sup>50,</sup> <sup>124</sup> Die negative Korrelation mit dem Neuauftreten dieses Manifestationstyps im 2. Follow up mit der immunhistochemisch nachweisbaren Ablagerung von IgG wird als Risikofaktor für die Persistenz generalisierter Läsionen gewertet und unterstreicht die Bedeutung des Komplementsystems.<sup>80</sup> Als nicht-immunologische Faktoren des generalisierten Befalls wurden eine verstärkte Thrombozytenaktivität<sup>40, 70, 118</sup> und die Dauer des Hirntods identifiziert.<sup>162</sup> Auch Everolimus zeigte bei dieser Manifestationsform der TVP protektive Effekte, die genauso wie die der Statine bereits in der Literatur beschrieben wurde.<sup>43, 83, 98</sup> Der "Statineffekt" ist dabei wahrscheinlich durch eine antiinflammatorischen Wirkung aufgrund verminderter Rekrutierung von Entzündungszellen in das transplantierte Organ<sup>29</sup> bzw. deren hemmende Wirkung auf NK-Zellen zu erklären.<sup>141</sup>

Im Gegensatz zur epikardialen TVP konnten in den vorliegenden Untersuchungen weder bei generalisierter noch mikrovaskulärer Manifestationsform Beziehungen zu Risikofaktoren wie Spenderalter und Spendergeschlecht,<sup>3, 44, 69, 95</sup> Ischämiezeit,<sup>56, 180</sup> Indikation zur HTx<sup>3, 44, 69, 95</sup> oder CMV-Infektionen bzw. -Status des Empfängers bzw. Spenders gezeigt werden.<sup>19, 90, 105</sup> Daher gibt es wahrscheinlich neben zahlreichen Schnittstellen kausalpathogenetisch relevanter Faktoren für einen mikrovaskulären, generalisierten oder ausschließlich epikardialen Befall der TVP auch Faktoren als "Schaltstellen", die je nach zeitlichem Auftreten den Ausprägungsmodus der TVP modulieren können und die Untersuchung ätiopathogenetischer Zusammenhänge zusätzlich erschweren.



#### Abbildung 23: Modell zur Ätiopathogenese der Transplantatvaskulopathie mit mikrovaskulärem und generalisiertem Blutgefäßbefall

In **fett** Risikofaktoren für die Neuentwicklung von Gefäßveränderungen; \* Risikofaktoren für die Progression mikrovaskulärer Veränderungen; rot gemeinsame Faktoren für mikrovaskulären und generalisierten Befall; ACR, akute zelluläre Rejektion; AT3, Antithrombin III; Bx, Biopsie; Ca, Calcium; EBV, Ebstein-Barr-Virus; Fx, Funktion; Ig, Immunglobuline; Mg, Magnesium; HLA, Human Leukocyte Antigen; NK-Zellen, natürliche Killerzellen; PLT, Thrombozyten; PO<sub>4</sub>; Phosphat; PVB19, Parvovirus B19; SMC, glatte Muskelzellen; TH4+; T-Helferzellen; aktT-LZ, aktivierte T-Lymphozyten

#### IV. Zusammenfassung der Ergebnisse und klinische Implikationen

Sowohl die mikrovaskuläre als auch generalisierte Manifestationsform der TVP sind das Resultat immunologischer und nicht-immunologischer kausalpathogenetischer Mechanismen, die zeitabhängig mit hinreichender oder notwendiger Bedingung zur einer Störung der regelnden Funktion der Endothelzellen führen und deren Ausfall oder eine Veränderung ihrer Feedback-Mechanismen bewirken. Die Gewichtung der Folgereaktionen erfolgt in Relation zur quantitativen Verteilung der endothelialen Oberfläche im Transplantat, deren größte Ausdehnung sich im Bereich der terminalen Strombahn befindet. Dort entwickelt sich infolge der endothelialen Dysregulation im Gegensatz zum epikardialen Strombett keine Erkrankung der Intima sondern eine stenosierende Erkrankung der Media. Die luminale Stenose ist dabei Ausdruck eines verminderten adaptiven Gefäßremodellings, das entweder auf der Unfähigkeit zur Lumenerweiterung oder einem morphologisch fixierten Zustand beruht und durch eine Proliferation von vaskulären glatten Muskelzellen, Umverteilung von Blutgefäßqualitäten und Rarifizierung von Kollateralkreisläufen bedingt ist. Die vaskulären Texturstörungen bewirken durch myokardiale Ischämiezustände ein konsekutives endomyokardiales Remodelling, dass durch eine Zunahme bindegewebiger Strukturen und eine Hypertrophie der Herzmuskelzellen gekennzeichnet ist. Darüber hinaus führt die Veränderung der vaskulären Textur zu einer Störung der antiaggregatorischen Funktion des Endothels, das im Wechselspiel mit Thrombozyten und deren Mediatoren, und hier vermutlich vorrangig PDGF, sowie endovaskulärer Komplement- und Immunglobulinablagerungen die Entwicklung und Progression vaskulärer Veränderungen bei TVP akzeleriert und gleichzeitig das Risiko für thrombogene Ischämieereignisse im Transplantat erhöht.

Art und Ausmaß des Befalls der terminalen Strombahn bestimmen den klinischen Verlauf der TVP. Während pathologische Veränderungen der mikrovaskulären Endothel- und Mediaschicht in rechtsventrikulären Biopsieproben von herztransplantierten Patienten häufig und nicht notwendigerweise überlebenslimitierend sind besitzt dagegen der bioptische Nachweis einer stenosierenden Mikrovaskulopathie prognostische Bedeutung für das Überleben. Die stenosierende Mikrovaskulopathie geht im Langzeitverlauf nach HTx mit einer erhöhten Rate fataler kardialer Ereignisse einher, unabhängig vom Bestehen einer epikardialen TVP. Dabei scheint die stenosierende Mikrovaskulopathie einen frühen, innerhalb der ersten drei Monate nach HTx präsenten und einen späten, am Ende des ersten Jahres nach HTx bestehenden Phänotyp auszubilden. Ersterer ist das Äquivalent der o. g. architektonischen Umbauprozesse im Bereich der terminalen Strombahn und letzterer die Kombination aus vaskulärer Texturstörung und proaggregatorischem umgebenden Milieu. Beide Phänotypen treten im ersten Jahr nach HTx mit gleicher Prävalenz bei Männern und Frauen auf und haben bei beiden Geschlechtern prognostische Bedeutung für das Langzeitüberleben. Jedoch ist der letale Verlauf häufiger bei Männern als bei Frauen, unabhängig vom Geschlecht des Organspenders. Dieser Befund sowie die Beobachtung, das Frauen seltener eine epikardiale stenosierende TVP entwickeln legt den Schluss nahe, dass die TVP bei Frauen eher einem diffusen und "milderen" Läsionstyp folgt. Die Mechanismen, die den blanderen klinischen Verlauf bei Frauen

bedingen, sind zwar weitgehend unbekannt, wahrscheinlich jedoch in der immunmodulatorischen Kompetenz von Östrogenen und/oder deren Rezeptoren zu vermuten.

Früh nach HTx zeigt sich sowohl in den bildgebenden als auch histologischen Untersuchungen ein hoher Anteil vom Spender importierter Koronarveränderungen und myokardialer Architekturstörungen, die bei beiden morphologischen Einheiten eine exakte Diagnostik ausschließlich transplantationsassoziierter Phänomene erschweren und kausalpathogenetische Zusammenhänge verwischen. Unabhängig von der Art und dem Ausmaß importierter vaskulärer Veränderungen kommt es bei der Mehrzahl der transplantierten Patienten zu einer zeitabhängigen Zunahme mikrovaskulärer und epikardialer Blutgefäßveränderungen nach HTx. Da Gefäßfunktionsstörungen bereits früh nach HTx in hoher Prävalenz nachweisbar sind, ohne dass sich dafür in äquivalenter Häufigkeit morphologische Veränderungen in der terminalen Strombahn darstellen lassen, liefert deren Feststellung keinen Beitrag zur Erweiterung des diagnostischen Spektrums der Mikrovaskulopathie. Der IVUS erfasst ausschließlich epikardiale Blutgefäßveränderungen und ist in der derzeitigen Applikation unzureichend für die globale Charakterisierung der pathoanatomischen Charakteristika einer TVP. Dagegen haben periphere Obliterationen als koronarangiographischer Parameter des generalisierten sich Blutgefäßbefalls bestätigt und lassen mit hinreichender Sicherheit einen Befall der terminalen Strombahn vermuten. Darüber hinaus sind koronarangiographische Stanford Typ B2-Läsionen eng mit der Progredienz einer Mikrovaskulopathie verknüpft und spiegeln gleichzeitig ein inadäquates Remodelling in der epikardialen aber auch terminalen Strombahn wider. Beide Parameter sollten daher in den koronarangiographischen Untersuchungen von HTx-Patienten routinemäßig befundet werden und es muss in zukünftigen Studien geklärt werden, in welchem Ausmaß sie den überlebenslimitierenden Effekt der stenosierenden Mikrovaskulopathie verstärken. Darüber hinaus ist es ebenso wichtig, solche Kriterien zu implementieren, die einen ausschließlichen Befall der epikardialen Strombahn anzeigen, um diskordante Verläufe der TVP auf den verschiedenen Ebenen des koronaren Strombettes zu erfassen. Unter den vorgenannten Bedingungen erscheint die Koronarangiographie dafür das adäguate Instrument und der IVUS nicht gerechtfertigt.

Der klinische Status der Patienten ist entgegen den erhobenen Befunden im koronaren Strombett und Endomyokard bereits früh nach HTx sehr gut und lässt sich mit den hier eingesetzten Methoden der kardiopulmonalen Belastbarkeit nicht messen. Auf der Basis der vorliegenden Ergebnisse stehen jedoch mit der Biopsie und der Koronarangiographie zwei leistungsstarke diagnostische Instrumente für die Sicherung einer TVP zur Verfügung. Dabei ist das dieser Arbeit zugrundeliegende Graduierungssystem für mikrovaskuläre Veränderungen nach HTx an routinemäßig aufbereiteten rechtsventrikulären Biopsieproben einfach und ohne zusätzliche apparative Ausstattung anwendbar. Gleiches gilt für die erweiterte luminographische Befundung der koronarangiographischen Untersuchungen. Aufgrund des klinisch stummen Verlaufs mikrovaskulärer und generalisierter Gefäßveränderungen innerhalb des 1. Jahres nach HTx ist der Einsatz der Biopsie und Koronarangiographie in Form eines zeitabhängiges Screening zu fordern, um Patienten mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung fataler kardialer Ereignisse zu selektieren. Im gleichen Untersuchungsgang ist dabei die Diagnose des sog. Quilty-Phänomens möglich, das den deletären

Effekt der stenosierenden Mikrovaskulopathie für das Überleben nach HTx potenziert. Dieses subendotheliale Lymphozyteninfiltrat ist jedoch nicht nur ein limitierender Faktor für das Transplantatüberleben, sondern auch ein Risikofaktor für die Entwicklung einer Mikrovaskulopathie und sollte daher wie eine akute zelluläre Rejektion behandelt werden. Akuten zelluläre Rejektion jeden Schweregrads waren mit der Entwicklung einer Mikrovaskulopathie im 1. Jahr nach HTx assoziiert. Dieser Befund stützt die langjährige Strategie des Deutschen Herzzentrums Berlin jede zelluläre Abstoßung unabhängig von Schweregrad zu therapieren. In wieweit bestimmte Subtypen NKinflammatorischer Zellen, wie Makrophagen, oder B-Zellen besonderer von kausalpathogenetischer Bedeutung im Prozess der TVP sind, lässt sich anhand der vorliegenden Untersuchungen nur vermuten, da mechanistische Zusammenhänge nicht direkt geprüft wurden. Allerdings scheint ihre Involvierung nicht zwingend für die Entwicklung einer TVP, die weder durch Mycophenolat Mofetil noch Cortison effektiv gehemmt wurde.

Ein erhöhtes Spenderalter ist kein prädisponierender Faktor für die Entwicklung einer TVP, es muss allerdings auch unter dem Gesichtspunkt seiner Effekte auf den direkten postoperativen Verlauf bewertet werden und nicht nur im Langzeitverlauf nach HTx. Als neuer Risikofaktor für die Entwicklung einer TVP konnte der myokardiale Nachweis des Ebstein-Barr-Viruses charakterisiert werden, während sich ein Effekt von CMV weder serologisch noch anhand der Biopsieuntersuchungen belegen ließ. Da die Anzahl myokardialer viraler Genome mit der Entwicklung einer TVP assoziiert war, sollten Virusinfektionen nach HTx bioptisch gesichert werden, das sie keine serologischen Korrelate besitzen. Aufgrund ihrer akzelerierenden Wirkung auf die TVP sollten diese soweit möglich auch therapiert werden. Die Intensivierung der Patientenbetreuung und die daraus resultierende kontinuierliche Optimierung der medikamentösen Therapie scheint ebenso die Entwicklung einer TVP zu modulieren. Dieses Phänomen wird in der Literatur als "Ära-Effekt" bezeichnet und lässt die Vermutung aufkommen, dass die zeitliche Streckung der Wiedervorstellungen im Rahmen der Nachsorge bei zweifelsohne erhöhtem Patientenkomfort gleichzeitig auch Raum für eine eingeschränkte Compliance bietet. Um den "Ära-Effekt" klinisch nutzen zu können sollte daher unabhängig vom Zeitpunkt nach HTx ein engmaschigeres Follow up der Patienten erfolgen. Der protektive Effekt von Statinen wurde für den generalisierten Blutgefäßbefall durch TVP belegt, wobei der Nachweis des schützendes Effektes nur im retrospektiven Ansatz auch singulär für die Manifestation in der terminalen Strombahn gezeigt werden konnte. Vermutlich bedarf es zur Prävention der mikrovaskulären Form weiterer Therapeutika, deren Wirkspektrum der erhöhten Thrombozytenaktivität und deren Interaktion mit den Endothel- und glatten Muskelzellen im Bereich der terminalen Strombahn gerecht wird. Es besteht Grund zu der Annahme, dass Clopidogrel als PDGF-Antagonist ein solcher Kandidat sein könnte und es muss geprüft werden, ob dieses Medikament neben den Statinen in die routinemäßige Applikation nach HTx aufgenommen werden sollte. Neben dem vorbeschriebenen therapeutischen Effekt von Everolimus auf epikardialer Ebene des Koronarbaums konnte gezeigt werden, dass es auch im Bereich der terminalen Strombahn präventiv auf die Entwicklung einer stenosierenden Mikrovaskulopathie wirkt. Ursächlich dafür ist dessen antiproliferative Wirkung auf vaskuläre glatte Muskelzellen anzunehmen, die direkt das

morphologische Substrat der luminalen Stenosen angreift und offensichtlich effektiver ist als die ausschließliche Hemmung der "Boten" in Form der Immunzellen. Damit erscheint erstmalig ein effektiver Behandlungsansatz durch Modulation der Immunsuppression möglich, der die mikrovaskuläre und generalisierte Manifestationsform der TVP erfasst.

Unbekannt ist, ob sich die diagnostischen Genauigkeiten der hier eingesetzten Untersuchungsmittel und Parameter sowie die charakterisierten Risikofaktoren nur auf das erste Jahr nach HTx beschränken oder sich im Zeitverlauf weitere Vor- oder Nachteile der besagten Untersuchungsinstrumente bzw. eine Verschiebung des Risikoprofils herausarbeiten lassen. Die (prognostische) Bedeutung rückläufiger Befunde im Bereich der terminalen Strombahn und deren kausale Mechanismen sind ungewiss, und auch ob sie als Folge der immunologischen Auseinandersetzung oder nicht-immunologischer Faktoren bei und kurz nach der HTx zu werten sind.

Obwohl das hier eingesetzte Graduierungssystem für mikrovaskuläre Veränderungen nach HTx solche morphologischen Erscheinungsformen erfasst, die einen limitierenden Effekt auf das Langzeitüberleben haben bleibt offen, ob es mikrovaskuläre Veränderungen bei TVP gibt, die bereits im intermediären Verlauf prognostische Relevanz entwickeln. Hier bleibt zu prüfen, ob die Quantifizierung der betroffenen Gefäße und die Bestimmung vom Schweregrad der luminalen Stenose im Bereich der terminalen Strombahn die diagnostische Sicherheit und prognostische Aussagekraft des aktuell eingesetzten Klassifikationsstandard erhöhen. Des weiteren steht derzeit keine adäguate diagnostische Methode zur Verfügung, um die funktionellen Folgen der TVP rechtzeitig und valide abzubilden. Die Entwicklung eines solchen Instruments ist von gleicher Relevanz wie die Weiterentwicklung therapeutischer Strategien, und beidem sollte in zukünftigen Studien Rechnung getragen werden.

#### V. Literaturverzeichnis

- 1. Thomson JG. Heart transplantation in man--necropsy findings. Br Med J. 1968; 2:511-7.
- 2. Billingham ME. Cardiac transplant atherosclerosis. Transplant Proc. 1987; 19:19-25
- Taylor DO, Edwards LB, Boucek MM, Trulock EP, Deng MC, Keck BM, Hertz MI. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-second official adult heart transplant report--2005. J Heart Lung Transplant. 2005; 24:945-55
- 4. Weis M, von Scheidt W. Cardiac allograft vasculopathy: a review. Circulation. 1997; 96:2069-77.
- 5. Armstrong AT, Strauch AR, Kardan A, Starling RC. Morphometric and immunocytochemical analysis of coronary arterioles in human transplanted hearts. J Heart Lung Transplant. 1996; 15:818-26.
- 6. Hiemann NE, Wellnhofer E, Abdul-Khaliq H, Thomann S, Hetzer R, Meyer R. Epicardial and microvascular graft vessel disease in children. Acta paediatrica. 2004; 446:70-4
- Hiemann NE, Meyer R, Hummel M, Wellnhofer E, Thomann S, Hetzer R. Role of B Cells and macrophages in microvascular disease after heart transplantation. Thoracic and Cardiovascular Surgeon. 2004; 52:16-22
- Hiemann NE, Musci M, Wellnhofer E, Meyer R, Hetzer R. Light microscopic biopsy findings after heart transplantation and possible links to development of graft vessel disease. Transplant Proc. 1999; 31:149-51.
- Sarris GE, Mitchell RS, Billingham ME, Glasson JR, Cahill PD, Miller DC. Inhibition of accelerated cardiac allograft arteriosclerosis by fish oil. J Thorac Cardiovasc Surg. 1989; 97:841-54; discussion 854-5
- Frazier OH, Kadipasaoglu KA, Radovancevic B, Cihan HB, March RJ, Mirhoseini M, Cooley DA. Transmyocardial laser revascularization in allograft coronary artery disease. Ann Thorac Surg. 1998; 65:1138-41
- Fang JC, Kinlay S, Beltrame J, Hikiti H, Wainstein M, Behrendt D, Suh J, Frei B, Mudge GH, Selwyn AP, Ganz P. Effect of vitamins C and E on progression of transplantassociated arteriosclerosis: a randomised trial. Lancet. 2002; 359:1108-13
- Ogawa N, Koyama I, Shibata T, Watanabe T, Akimoto N, Taguchi Y, Shinozuka N, Omoto R. Pravastatin prevents the progression of accelerated coronary artery disease after heart transplantation in a rabbit model. Transpl Int. 1996; 9 Suppl 1:S226-9
- Ballantyne CM, Masri BM, Clubb FJ, Jr., Radovancevic B, Smith CW, Hawkins HK, Frazier OH, Willerson JT. Increased expression of ICAM-1 in a case of accelerated coronary artery disease after heart transplantation. Tex Heart Inst J. 1996; 23:293-5.
- Johnson DE, Alderman EL, Schroeder JS, Gao SZ, Hunt S, DeCampli WM, Stinson E, Billingham M. Transplant coronary artery disease: histopathologic correlations with angiographic morphology. J Am Coll Cardiol. 1991; 17:449-57.
- 15. Richter M, Skupin M, Grabs R, Schramm D, Richter H, Olbrich HG. New approach in the therapy of chronic rejection? ACE- and AT1-blocker reduce the development of chronic
rejection after cardiac transplantation in a rat model. J Heart Lung Transplant. 2000; 19:1047-55

- Richter M, Richter H, Skupin M, Mohr FW, Olbrich HG. Do vascular compartments differ in the development of chronic rejection? AT(1) blocker candesartan versus Ace blocker enalapril in an experimental heart transplant model. J Heart Lung Transplant. 2001; 20:1092-8
- Vassalli G, Gallino A. Endothelial dysfunction and accelerated coronary artery disease in cardiac transplant recipients. Microcirculation Working Group, European Society of Cardiology. Eur Heart J. 1997; 18:1712-7.
- Gao SZ, Alderman EL, Schroeder JS, Silverman JF, Hunt SA. Accelerated coronary vascular disease in the heart transplant patient: coronary arteriographic findings. J Am Coll Cardiol. 1988; 12:334-40.
- Loebe M, Schuler S, Zais O, Warnecke H, Fleck E, Hetzer R. Role of cytomegalovirus infection in the development of coronary artery disease in the transplanted heart. J Heart Transplant. 1990; 9:707-11
- Gheissari A, Yokoyama T, Hendel J, Capouya E, Fuentes J, Jimenez P. Diltiazem prevents accelerated graft coronary artery disease in heart transplant recipients. Transplant Proc. 1995; 27:2625-7
- Aziz S, Tada Y, Gordon D, McDonald TO, Fareed J, Verrier ED. A reduction in accelerated graft coronary disease and an improvement in cardiac allograft survival using low molecular weight heparin in combination with cyclosporine. J Heart Lung Transplant. 1993; 12:634-43
- 22. Billingham ME. Does intracoronary ultrasound conflict with pathology? Comments from a panel discussion. J Heart Lung Transplant. 1995; 14:S211-4.
- Schroeder JS, Gao SZ, Alderman EL, Hunt SA, Johnstone I, Boothroyd DB, Wiederhold V, Stinson EB. A preliminary study of diltiazem in the prevention of coronary artery disease in heart-transplant recipients. N Engl J Med. 1993; 328:164-70
- Meiser BM, Wolf S, Devens C, Wenke K, Thiery J, Kreuzer E, Hammer C, Billingham ME, Reichart B. Continuous infusion of angiopeptin significantly reduces accelerated graft vessel disease induced by FK 506 in a rat heart allograft model. Transplant Proc. 1992; 24:1671-2
- 25. Reed EF, Hong B, Ho E, Harris PE, Weinberger J, Suciu-Foca N. Monitoring of soluble HLA alloantigens and anti-HLA antibodies identifies heart allograft recipients at risk of transplant-associated coronary artery disease. Transplantation. 1996; 61:566-72.
- 26. Demetris AJ, Zerbe T, Banner B. Morphology of solid organ allograft arteriopathy: identification of proliferating intimal cell populations. Transplant Proc. 1989; 21:3667-9.
- Dong C, Wilson JE, Winters GL, McManus BM. Human transplant coronary artery disease: pathological evidence for Fas-mediated apoptotic cytotoxicity in allograft arteriopathy. Lab Invest. 1996; 74:921-31.

- Koskinen PK, Krogerus LA, Nieminen MS, Mattila SP, Hayry PJ, Lautenschlager IT. Quantitation of cytomegalovirus infection-associated histologic findings in endomyocardial biopsies of heart allografts. J Heart Lung Transplant. 1993; 12:343-54.
- 29. Shimizu K, Aikawa M, Takayama K, Libby P, Mitchell RN. Direct anti-inflammatory mechanisms contribute to attenuation of experimental allograft arteriosclerosis by statins. Circulation. 2003; 108:2113-20
- Atkinson JB, Wudel JH, Hoff SJ, Stewart JR, Frist WH. Amlodipine reduces graft coronary artery disease in rat heterotopic cardiac allografts. J Heart Lung Transplant. 1993; 12:1036-43
- Meckel CR, Anderson TJ, Mudge GH, Mitchell RN, Yeung AC, Selwyn AP, Ganz P, Simon DI. Hemostatic/fibrinolytic predictors of allograft coronary artery disease after cardiac transplantation. Vasc Med. 1997; 2:306-12.
- 32. Taylor DO, Bristow MR, O'Connell JB, Price GD, Hammond EH, Doty DB, Karwande SV, Gay WA, Jr., Jones KW, Lappe D, Renlund DG. Improved long-term survival after heart transplantation predicted by successful early withdrawal from maintenance corticosteroid therapy. J Heart Lung Transplant. 1996; 15:1039-46
- 33. Benza RL, Zoghbi GJ, Tallaj J, Brown R, Kirklin JK, Hubbard M, Rayburn B, Foley B, McGiffin DC, Pinderski LJ, Misra V, Bourge RC. Palliation of allograft vasculopathy with transluminal angioplasty: a decade of experience. J Am Coll Cardiol. 2004; 43:1973-81
- Halle AA, 3rd, DiSciascio G, Massin EK, Wilson RF, Johnson MR, Sullivan HJ, Bourge RC, Kleiman NS, Miller LW, Aversano TR, et al. Coronary angioplasty, atherectomy and bypass surgery in cardiac transplant recipients. J Am Coll Cardiol. 1995; 26:120-8
- Bader FM, Kfoury AG, Gilbert EM, Barry WH, Humayun N, Hagan ME, Thomas H, Renlund
  D. Percutaneous coronary interventions with stents in cardiac transplant recipients. J
  Heart Lung Transplant. 2006; 25:298-301
- 36. Erinc K, Yamani MH, Starling RC, Crowe T, Hobbs R, Bott-Silverman C, Rincon G, Young JB, Feng J, Cook DJ, Smedira N, Tuzcu EM. The effect of combined Angiotensin-converting enzyme inhibition and calcium antagonism on allograft coronary vasculopathy validated by intravascular ultrasound. J Heart Lung Transplant. 2005; 24:1033-8
- Lamich R, Ballester M, Marti V, Brossa V, Aymat R, Carrio I, Berna L, Camprecios M, Puig M, Estorch M, Flotats A, Bordes R, Garcia J, Auge, Padro JM, Caralps JM, Narula J. Efficacy of augmented immunosuppressive therapy for early vasculopathy in heart transplantation. J Am Coll Cardiol. 1998; 32:413-9
- Yamani MH, Tuzcu EM, Starling RC, Young JB, Cook DJ, Haji SA, Abdo A, Crowe T, Hobbs R, Rincon G, Bott-Silverman C, McCarthy PM, Ratliff NB. Computerized scoring of histopathology for predicting coronary vasculopathy, validated by intravascular ultrasound. J Heart Lung Transplant. 2002; 21:850-9

- 39. Arbustini E, Roberts WC. Morphological observations in the epicardial coronary arteries and their surroundings late after cardiac transplantation (allograft vascular disease). Am J Cardiol. 1996; 78:814-20.
- 40. Mancini MC, Evans JT. Role of platelet-derived growth factor in allograft vasculopathy. Ann Surg. 2000; 231:682-8.
- Akyurek LM, Johnsson C, Lange D, Georgii-Hemming P, Larsson E, Fellstrom BC, Funa K, Tufveson G. Tolerance induction ameliorates allograft vasculopathy in rat aortic transplants. Influence of Fas-mediated apoptosis. J Clin Invest. 1998; 101:2889-99
- 42. Clausell N, Butany J, Molossi S, Lonn E, Gladstone P, Rabinovitch M, Daly PA. Abnormalities in intramyocardial arteries detected in cardiac transplant biopsy specimens and lack of correlation with abnormal intracoronary ultrasound or endothelial dysfunction in large epicardial coronary arteries. J Am Coll Cardiol. 1995; 26:110-9
- Eisen HJ, Tuzcu EM, Dorent R, Kobashigawa J, Mancini D, Valantine-von Kaeppler HA, Starling RC, Sorensen K, Hummel M, Lind JM, Abeywickrama KH, Bernhardt P. Everolimus for the prevention of allograft rejection and vasculopathy in cardiac-transplant recipients. N Engl J Med. 2003; 349:847-58
- 44. Erinc K, Yamani MH, Starling RC, Young JB, Crowe T, Ratliff NB, Cook DJ, Hobbs R, Bott-Silverman C, Rincon G, Smedira N, Tuzcu EM. The influence of donor gender on allograft vasculopathy: evidence from intravascular ultrasound. Transplant Proc. 2004; 36:3129-31
- Hollenberg SM, Klein LW, Parrillo JE, Scherer M, Burns D, Tamburro P, Oberoi M, Johnson MR, Costanzo MR. Coronary endothelial dysfunction after heart transplantation predicts allograft vasculopathy and cardiac death. Circulation. 2001; 104:3091-6
- Hollenberg SM, Klein LW, Parrillo JE, Scherer M, Burns D, Tamburro P, Bromet D, Satran A, Costanzo MR. Changes in coronary endothelial function predict progression of allograft vasculopathy after heart transplantation. J Heart Lung Transplant. 2004; 23:265-71
- Kapadia SR, Nissen SE, Ziada KM, Guetta V, Crowe TD, Hobbs RE, Starling RC, Young JB, Tuzcu EM. Development of transplantation vasculopathy and progression of donortransmitted atherosclerosis: comparison by serial intravascular ultrasound imaging. Circulation. 1998; 98:2672-8
- 48. Pethig K, Heublein B, Haverich A. Cardiac allograft vasculopathy--coronary interventions and surgical options. Z Kardiol. 2000; 89 Suppl 9:IX/66-9
- Srivastava R, Keck BM, Bennett LE, Hosenpud JD. The results of cardiac retransplantation: an analysis of the Joint International Society for Heart and Lung Transplantation/United Network for Organ Sharing Thoracic Registry. Transplantation. 2000; 70:606-12
- Uehara S, Chase CM, Kitchens WH, Rose HS, Colvin RB, Russell PS, Madsen JC. NK cells can trigger allograft vasculopathy: the role of hybrid resistance in solid organ allografts. J Immunol. 2005; 175:3424-30

- Yamani MH, Haji SA, Starling RC, Tuzcu EM, Ratliff NB, Cook DJ, Abdo A, Crowe T, Secic M, McCarthy P, Young JB. Myocardial ischemic-fibrotic injury after human heart transplantation is associated with increased progression of vasculopathy, decreased cellular rejection and poor long-term outcome. J Am Coll Cardiol. 2002; 39:970-7
- 52. Chen W, Thoburn CJ, Miura Y, Sommer M, Hruban R, Qian Z, Baldwin W, Hess AD. Autoimmune-mediated vasculopathy. Clin Immunol. 2001; 100:57-70
- Pflugfelder PW, Boughner DR, Rudas L, Kostuk WJ. Enhanced detection of cardiac allograft arterial disease with intracoronary ultrasonographic imaging. Am Heart J. 1993; 125:1583-91
- 54. Wellnhofer E, Bocksch W, Hiemann N, Dandel M, Klimek W, Hetzer R, Fleck E. Shear stress and vascular remodeling: study of cardiac allograft coronary artery disease as a model of diffuse atherosclerosis. J Heart Lung Transplant. 2002; 21:405-16.
- Rabinovitch M, Molossi S, Clausell N. Cytokine-mediated fibronectin production and transendothelial migration of lymphocytes in the mechanism of cardiac allograft vascular disease: efficacy of novel therapeutic approaches. J Heart Lung Transplant. 1995; 14:S116-23.
- 56. Ardehali A, Drinkwater DC, Laks H, Drake TA. Cardiac allograft vasculopathy. Am Heart J. 1993; 126:1498-502.
- 57. Baron H, Plenz G, Deng MC. [Mechanisms of transplant vasculopathy]. Dtsch Med Wochenschr. 2004; 129:2193-7
- Davies WR, Wang S, Oi K, Bailey KR, Tazelaar HD, Caplice NM, McGregor CG. Cyclosporine decreases vascular progenitor cell numbers after cardiac transplantation and attenuates progenitor cell growth in vitro. J Heart Lung Transplant. 2005; 24:1868-77
- Deng MC, Baba HA, Plenz G, Erren M, Wilhelm MJ, Moennig G, Scheld HH. Prediction of morbidity and mortality from cardiac allograft vasculopathy. Z Kardiol. 2000; 89 Suppl 9:IX/63-5
- 60. Faulk WP, Labarrere CA, Pitts D, Halbrook H. Vascular lesions in biopsy specimens devoid of cellular infiltrates: qualitative and quantitative immunocytochemical studies of human cardiac allografts. J Heart Lung Transplant. 1993; 12:219-29.
- Fredrich R, Toyoda M, Czer LS, Galfayan K, Galera O, Trento A, Freimark D, Young S, Jordan SC. The clinical significance of antibodies to human vascular endothelial cells after cardiac transplantation. Transplantation. 1999; 67:385-91
- Hollenberg SM, Tamburro P, Klein LW, Burns D, Easington C, Costanzo MR, Parrillo JE, Johnson MR. Discordant epicardial and microvascular endothelial responses in heart transplant recipients early after transplantation. J Heart Lung Transplant. 1998; 17:487-94.
- 63. Hosenpud JD, Shipley GD, Wagner CR. Cardiac allograft vasculopathy: current concepts, recent developments, and future directions. J Heart Lung Transplant. 1992; 11:9-23.

- 64. Hosenpud JD, Everett JP, Morris TE, Mauck KA, Shipley GD, Wagner CR. Cardiac allograft vasculopathy. Association with cell-mediated but not humoral alloimmunity to donor-specific vascular endothelium. Circulation. 1995; 92:205-11
- Julius BK, Attenhofer Jost CH, Sutsch G, Brunner HP, Kuenzli A, Vogt PR, Turina M, Hess OM, Kiowski W. Incidence, progression and functional significance of cardiac allograft vasculopathy after heart transplantation. Transplantation. 2000; 69:847-53
- 66. Klauss V, Mudra H, Uberfuhr P, Theisen K. Intraindividual variability of cardiac allograft vasculopathy as assessed by intravascular ultrasound. Am J Cardiol. 1995; 76:463-6
- Konig A, Spes CH, Schiele TM, Rieber J, Stempfle HU, Meiser B, Theisen K, Mudra H, Reichart B, Klauss V. Coronary Doppler measurements do not predict progression of cardiac allograft vasculopathy: analysis by serial intracoronary Doppler, dobutamine stress echocardiography, and intracoronary ultrasound. J Heart Lung Transplant. 2002; 21:902-905
- Mangiavacchi M, Frigerio M, Gronda E, Danzi GB, Bonacina E, Masciocco G, Olivia F, De Vita C, Pellegrini A. Acute rejection and cytomegalovirus infection: correlation with cardiac allograft vasculopathy. Transplant Proc. 1995; 27:1960-2.
- Mehra MR, Stapleton DD, Ventura HO, Escobar A, Cassidy CA, Smart FW, Collins TJ, Ramee SR, White CJ. Influence of donor and recipient gender on cardiac allograft vasculopathy. An intravascular ultrasound study. Circulation. 1994; 90:II78-82
- Meliss RR, Pethig K, Schmidt A, Heublein B, Harringer W, Karck M, Choritz H, Haverich A. Cardiac allograft vasculopathy: adventitial immunoreactivity for PDGF-B and PDGFr-beta in extra- versus intramural coronary arteries. Transplant Proc. 2001; 33:1579-80.
- Sharples LD, Jackson CH, Parameshwar J, Wallwork J, Large SR. Diagnostic accuracy of coronary angiography and risk factors for post-heart-transplant cardiac allograft vasculopathy. Transplantation. 2003; 76:679-82
- 72. Spes CH, Angermann CE. Stress echocardiography for assessment of cardiac allograft vasculopathy. Z Kardiol. 2000; 89 Suppl 9:IX/50-3
- 73. Valantine H. Cardiac allograft vasculopathy after heart transplantation: risk factors and management. J Heart Lung Transplant. 2004; 23:S187-93
- 74. Kovarik JM. Everolimus: a proliferation signal inhibitor targeting primary causes of allograft dysfunction. Drugs Today (Barc). 2004; 40:101-9
- 75. Tanaka K, Li H, Curran PJ, Takano Y, Arbit B, Currier JW, Yeatman LA, Kobashigawa JA, Tobis JM. Usefulness and safety of percutaneous coronary interventions for cardiac transplant vasculopathy. Am J Cardiol. 2006; 97:1192-7
- 76. Savolainen H, Frosen J, Petrov L, Aavik E, Hayry P. Expression of estrogen receptor subtypes alpha and beta in acute and chronic cardiac allograft vasculopathy. J Heart Lung Transplant. 2001; 20:1252-64

- 77. Gregory CR, Katznelson S, Griffey SM, Kyles AE, Berryman ER. Fluvastatin in combination with rad significantly reduces graft vascular disease in rat cardiac allografts. Transplantation. 2001; 72:989-93
- 78. Libby P, Tanaka H. The pathogenesis of coronary arteriosclerosis ("chronic rejection") in transplanted hearts. Clin Transplant. 1994; 8:313-8.
- 79. Maggard MA, Ke B, Wang T, Kaldas F, Seu P, Busuttil RW, Imagawa DK. Effects of pravastatin on chronic rejection of rat cardiac allografts. Transplantation. 1998; 65:149-55
- Michaels PJ, Espejo ML, Kobashigawa J, Alejos JC, Burch C, Takemoto S, Reed EF, Fishbein MC. Humoral rejection in cardiac transplantation: risk factors, hemodynamic consequences and relationship to transplant coronary artery disease. J Heart Lung Transplant. 2003; 22:58-69
- Orloff MS, DeMara EM, Coppage ML, Leong N, Fallon MA, Sickel J, Zuo XJ, Prehn J, Jordan SC. Prevention of chronic rejection and graft arteriosclerosis by tolerance induction. Transplantation. 1995; 59:282-8
- Pardo Mindan FJ, Panizo A, Lozano MD, Herreros J, Mejia S. Role of endomyocardial biopsy in the diagnosis of chronic rejection in human heart transplantation. Clin Transplant. 1997; 11:426-31
- 83. Mahle WT, Vincent RN, Berg AM, Kanter KR. Pravastatin therapy is associated with reduction in coronary allograft vasculopathy in pediatric heart transplantation. J Heart Lung Transplant. 2005; 24:63-6
- 84. Bocksch W, Wellnhofer E, Klimek W, Schartl M, Dreysse S, Musci M, Hummel M, Hetzer R. Intravascular ultrasound assessment of longitudinal plaque distribution patterns in patients with angiographically silent coronary artery disease after heart transplantation. Coron Artery Dis. 2002; 13:349-56
- Gamba A, Mamprin F, Fiocchi R, Senni M, Troise G, Ferrazzi P, Ferrara R, Corbetta G. The risk of coronary artery disease after heart transplantation is increased in patients receiving low-dose cyclosporine, regardless of blood cyclosporine levels. Clin Cardiol. 1997; 20:767-72
- Johnson DE, Gao SZ, Schroeder JS, DeCampli WM, Billingham ME. The spectrum of coronary artery pathologic findings in human cardiac allografts. J Heart Transplant. 1989; 8:349-59
- Labarrere CA, Pitts D, Nelson DR, Faulk WP. Vascular tissue plasminogen activator and the development of coronary artery disease in heart-transplant recipients. N Engl J Med. 1995; 333:1111-6.
- Liang DH, Gao SZ, Botas J, Pinto FJ, Schroeder JS, Alderman EL, Yeung AC. Prediction of angiographic disease by intracoronary ultrasonographic findings in heart transplant recipients. J Heart Lung Transplant. 1996; 15:980-7.

- Ludman PF, Lazem F, Barbir M, Yacoub M. Incidence and clinical relevance of coronary calcification detected by electron beam computed tomography in heart transplant recipients. Eur Heart J. 1999; 20:303-8
- McDonald K, Rector TS, Braulin EA, Kubo SH, Olivari MT. Association of coronary artery disease in cardiac transplant recipients with cytomegalovirus infection. Am J Cardiol. 1989; 64:359-62
- Olivari MT, Homans DC, Wilson RF, Kubo SH, Ring WS. Coronary artery disease in cardiac transplant patients receiving triple-drug immunosuppressive therapy. Circulation. 1989; 80:III111-5
- 92. Petrossian GA, Nichols AB, Marboe CC, Sciacca R, Rose EA, Smith CR, Cannon PJ, Reemtsma K, Powers ER. Relation between survival and development of coronary artery disease and anti-HLA antibodies after cardiac transplantation. Circulation. 1989; 80:III122-5.
- 93. Pucci AM, Forbes RD, Billingham ME. Pathologic features in long-term cardiac allografts. J Heart Transplant. 1990; 9:339-45.
- 94. Smart FW, Ballantyne CM, Cocanougher B, Farmer JA, Sekela ME, Noon GP, Young JB. Insensitivity of noninvasive tests to detect coronary artery vasculopathy after heart transplant. Am J Cardiol. 1991; 67:243-7.
- 95. Sharples LD, Caine N, Mullins P, Scott JP, Solis E, English TA, Large SR, Schofield PM, Wallwork J. Risk factor analysis for the major hazards following heart transplantation-rejection, infection, and coronary occlusive disease. Transplantation. 1991; 52:244-52
- 96. Sharples LD, Mullins PA, Cary NR, Large SR, Schofield PM, Wallwork J. A method of analyzing the onset and progression of coronary occlusive disease after transplantation and its effect on patient survival. J Heart Lung Transplant. 1993; 12:381-7
- 97. Salomon RN, Hughes CC, Schoen FJ, Payne DD, Pober JS, Libby P. Human coronary transplantation-associated arteriosclerosis. Evidence for a chronic immune reaction to activated graft endothelial cells. Am J Pathol. 1991; 138:791-8.
- Kobashigawa JA, Katznelson S, Laks H, Johnson JA, Yeatman L, Wang XM, Chia D, Terasaki PI, Sabad A, Cogert GA, et al. Effect of pravastatin on outcomes after cardiac transplantation. N Engl J Med. 1995; 333:621-7
- 99. Shaddy RE, Hammond EH, Yowell RL. Immunohistochemical analysis of platelet-derived growth factor and basic fibroblast growth factor in cardiac biopsy and autopsy specimens of heart transplant patients. Am J Cardiol. 1996; 77:1210-5.
- Molossi S, Clausell N, Rabinovitch M. Coronary artery endothelial interleukin-1 beta mediates enhanced fibronectin production related to post-cardiac transplant arteriopathy in piglets. Circulation. 1993; 88:II248-56.
- 101. Hauptman PJ, Davis SF, Miller L, Yeung AC. The role of nonimmune risk factors in the development and progression of graft arteriosclerosis: preliminary insights from a

multicenter intravascular ultrasound study. Multicenter Intravascular Ultrasound Transplant Study Group. J Heart Lung Transplant. 1995; 14:S238-42.

- Liu G, Butany J. Morphology of graft arteriosclerosis in cardiac transplant recipients. Hum Pathol. 1992; 23:768-73
- 103. Neish AS, Loh E, Schoen FJ. Myocardial changes in cardiac transplant-associated coronary arteriosclerosis: potential for timely diagnosis. J Am Coll Cardiol. 1992; 19:586-92.
- 104. Barr ML, McLaughlin SN, Murphy MP, Stouch BC, Wiedermann JG, Marboe CC, Schenkel FA, Berger CL, Rose EA. Prophylactic photopheresis and effect on graft atherosclerosis in cardiac transplantation. Transplant Proc. 1995; 27:1993-4
- 105. Grattan MT, Moreno-Cabral CE, Starnes VA, Oyer PE, Stinson EB, Shumway NE. Cytomegalovirus infection is associated with cardiac allograft rejection and atherosclerosis. Jama. 1989; 261:3561-6
- 106. Puskas C, Kosch M, Kerber S, Jonas M, Weyand M, Breithardt G, Scheld HH, Schober O. Progressive heterogeneity of myocardial perfusion in heart transplant recipients detected by thallium-201 myocardial SPECT. J Nucl Med. 1997; 38:760-5
- Kobayashi J, Crawford SE, Backer CL, Zales VR, Takami H, Hsueh C, Huang L, Mavroudis C. Captopril reduces graft coronary artery disease in a rat heterotopic transplant model. Circulation. 1993; 88:II286-90
- 108. Lijkwan MA, Cooke DT, Martens JM, Kown MH, Murata S, Peterson SH, Hoyt EG, Robbins RC. Cyclosporine treatment of high dose and long duration reduces the severity of graft coronary artery disease in rodent cardiac allografts. J Heart Lung Transplant. 2005; 24:439-45
- 109. Billingham ME. Graft coronary disease: the lesions and the patients. Transplant Proc. 1989; 21:3665-6.
- 110. Musci M, Loebe M, Wellnhofer E, Meyer R, Pasic M, Hummel M, Bocksch W, Grauhan O, Weng Y, Hetzer R. Coronary angioplasty, bypass surgery, and retransplantation in cardiac transplant patients with graft coronary disease. Thorac Cardiovasc Surg. 1998; 46:268-74
- Billingham ME. Pathology of graft vascular disease after heart and heart-lung transplantation and its relationship to obliterative bronchiolitis. Transplant Proc. 1995; 27:2013-6.
- 112. Gibbons GH. The pathogenesis of graft vascular disease: implications of vascular remodeling. J Heart Lung Transplant. 1995; 14:S149-58.
- 113. Joshi A, Masek MA, Brown BW, Jr., Weiss LM, Billingham ME. "Quilty" revisited: a 10-year perspective. Hum Pathol. 1995; 26:547-57
- 114. Hiemann NE, Meyer R, Wellnhofer E, Klimek WJ, Bocksch W, Hetzer R. Correlation of angiographic and immunohistochemical findings in graft vessel disease after heart transplantation. Transplant Proc. 2001; 33:1586-1590.
- 115. Jaeger BR, Meiser B, Nagel D, Uberfuhr P, Thiery J, Brandl U, Bruckner W, von Scheidt W, Kreuzer E, Steinbeck G, Reichart B, Seidel D. Aggressive lowering of fibrinogen and

cholesterol in the prevention of graft vessel disease after heart transplantation. Circulation. 1997; 96:II-154-8

- 116. Meiser BM, Wenke K, Thiery J, Brandl U, Mair H, Kur F, Detter C, Uberfuhr P, Kreuzer E, Seidel D, et al. Prevention and treatment of graft vessel disease after heart transplantation. Transplant Proc. 1995; 27:1931-5
- 117. Palmer DC, Tsai CC, Roodman ST, Codd JE, Miller LW, Sarafian JE, Williams GA. Heart graft arteriosclerosis. An ominous finding on endomyocardial biopsy. Transplantation. 1985; 39:385-8.
- Fateh-Moghadam S, Bocksch W, Ruf A, Dickfeld T, Schartl M, Pogatsa-Murray G, Hetzer R, Fleck E, Gawaz M. Changes in surface expression of platelet membrane glycoproteins and progression of heart transplant vasculopathy. Circulation. 2000; 102:890-7.
- 119. Ciliberto GR, Mangiavacchi M, Banfi F, Massa D, Danzi G, Cataldo G, Cipriani M, Piccalo G, Dabala A, Gronda E, et al. Coronary artery disease after heart transplantation: non-invasive evaluation with exercise thallium scintigraphy. Eur Heart J. 1993; 14:226-9
- 120. Lin H, Wilson JE, Kendall TJ, Radio SJ, Cornhill FJ, Herderick E, Winters GL, Costanzo MR, Porter T, Thieszen SL, et al. Comparable proximal and distal severity of intimal thickening and size of epicardial coronary arteries in transplant arteriopathy of human cardiac allografts. J Heart Lung Transplant. 1994; 13:824-33.
- 121. Abele S, Poehner M, Hiemann NE, Ramsperger-Gleixner M, Spriewald BM, Fischlein T, Weyand M, Ensminger SM. Clopidogrel Reduces the Development of Transplant Arteriosclerosis. J Thoracic Cardiovascular Surgery. 2006; 131:1161-6
- 122. Russell ME. Macrophages and transplant arteriosclerosis: known and novel molecules. J Heart Lung Transplant. 1995; 14:S111-5.
- 123. Foegh ML, Zhao Y, Lou H, Katz NM, Ramwell PW. Estrogen and prevention of transplant atherosclerosis. J Heart Lung Transplant. 1995; 14:S170-2
- 124. Ankersmit HJ, Moser B, Roedler S, Teufel I, Zuckermann A, Roth G, Lietz K, Back C, Gerlitz S, Wolner E, Boltz-Nitulescu G. Death-inducing receptors and apoptotic changes in lymphocytes of patients with heart transplant vasculopathy. Clin Exp Immunol. 2002; 127:183-9
- 125. Rose ML. Role of antibodies in transplant-associated cardiac allograft vasculopathy. Z Kardiol. 2000; 89 Suppl 9:IX/11-5
- 126. Crisp SJ, Dunn MJ, Rose ML, Barbir M, Yacoub MH. Antiendothelial antibodies after heart transplantation: the accelerating factor in transplant-associated coronary artery disease? J Heart Lung Transplant. 1994; 13:81-91; discussion 91-2
- 127. Hornick P, Smith J, Pomerance A, Mitchell A, Banner N, Rose M, Yacoub M. Influence of acute rejection episodes, HLA matching, and donor/recipient phenotype on the development of 'early' transplant-associated coronary artery disease. Circulation. 1997; 96:II-148-53.

- 128. Chu KE, Ho EK, de la Torre L, Vasilescu ER, Marboe CC. The relationship of nodular endocardial infiltrates (Quilty lesions) to survival, patient age, anti-HLA antibodies, and coronary artery disease following heart transplantation. Cardiovasc Pathol. 2005; 14:219-24
- 129. Stovin PG, Sharples L, Hutter JA, Wallwork J, English TA. Some prognostic factors for the development of transplant-related coronary artery disease in human cardiac allografts. J Heart Lung Transplant. 1991; 10:38-44.
- Crawford SE, Mavroudis C, Backer CL, Huang X, Mu Y, Volpert OV, Stellmach V, Pahl E, Huang L. Captopril suppresses post-transplantation angiogenic activity in rat allograft coronary vessels. J Heart Lung Transplant. 2004; 23:666-73
- 131. Dandel M, Hummel M, Muller J, Wellnhofer E, Meyer R, Solowjowa N, Ewert R, Hetzer R. Reliability of tissue Doppler wall motion monitoring after heart transplantation for replacement of invasive routine screenings by optimally timed cardiac biopsies and catheterizations. Circulation. 2001; 104:I184-91
- Dandel M, Wellnhofer E, Hummel M, Meyer R, Lehmkuhl H, Hetzer R. Early detection of left ventricular dysfunction related to transplant coronary artery disease. J Heart Lung Transplant. 2003; 22:1353-64
- 133. Kobashigawa JA, Miller L, Yeung A, Hauptman P, Ventura H, Wilensky R, Valantine H, Wiedermann J. Does acute rejection correlate with the development of transplant coronary artery disease? A multicenter study using intravascular ultrasound. Sandoz/CVIS Investigators. J Heart Lung Transplant. 1995; 14:S221-6.
- 134. Tuzcu EM, De Franco AC, Hobbs R, Rincon G, Bott-Silverman C, McCarthy P, Stewart R, Nissen SE. Prevalence and distribution of transplant coronary artery disease: insights from intravascular ultrasound imaging. J Heart Lung Transplant. 1995; 14:S202-7
- Valantine H, Pinto FJ, St Goar FG, Alderman EL, Popp RL. Intracoronary ultrasound imaging in heart transplant recipients: the Stanford experience. J Heart Lung Transplant. 1992; 11:S60-4.
- 136. Yeung AC, Davis SF, Hauptman PJ, Kobashigawa JA, Miller LW, Valantine HA, Ventura HO, Wiedermann J, Wilensky R. Incidence and progression of transplant coronary artery disease over 1 year: results of a multicenter trial with use of intravascular ultrasound. Multicenter Intravascular Ultrasound Transplant Study Group. J Heart Lung Transplant. 1995; 14:S215-20
- 137. Klauss V, Ackermann K, Henneke KH, Spes C, Zeitlmann T, Werner F, Regar E, Rieber J, Uberfuhr P, Reichart B, Theisen K, Mudra H. Epicardial intimal thickening in transplant coronary artery disease and resistance vessel response to adenosine: a combined intravascular ultrasound and Doppler study. Circulation. 1997; 96:II-64
- Labarre CA, Nelson DR, Pitts DE, Kirlin PC, Halbrook H. Immunohistochemical model to predict risk for coronary artery disease and failure in heart transplant patients. Am J Transplant. 2001; 1:251-9

- Sartori TM, Maurizio PG, Sara P, Ugolino L, Annalisa A, Panagiotis T, Massimo F, Antonio G. Relation between long-term steroid treatment after heart transplantation, hypofibrinolysis and myocardial microthrombi generation. J Heart Lung Transplant. 1999; 18:693-700.
- 140. Atkinson C, Southwood M, Pitman R, Phillpotts C, Wallwork J, Goddard M. Angiogenesis occurs within the intimal proliferation that characterizes transplant coronary artery vasculopathy. J Heart Lung Transplant. 2005; 24:551-8
- 141. Katznelson S, Wang XM, Chia D, Ozawa M, Zhong HP, Hirata M, Terasaki PI, Kobashigawa JA. The inhibitory effects of pravastatin on natural killer cell activity in vivo and on cytotoxic T lymphocyte activity in vitro. J Heart Lung Transplant. 1998; 17:335-40
- Faulk WP, Labarrere CA, Nelson DR, Pitts D. Hemostasis, fibrinolysis, and natural anticoagulation in transplant vascular sclerosis. J Heart Lung Transplant. 1995; 14:S158-64.
- 143. Deng MC, Plenz G, Erren M, Wilhelm MJ, Moennig G, Rothenburger M, Baba HA. Transplant vasculopathy: a model for coronary artery disease? Herz. 2000; 25:95-9
- 144. Grauhan O, Patzurek J, Hummel M, Lehmkuhl H, Dandel M, Pasic M, Weng Y, Hetzer R. Donor-transmitted coronary atherosclerosis. J Heart Lung Transplant. 2003; 22:568-73
- 145. Hartmann A, Mazzilli N, Weis M, Olbrich HG, Burger W, Satter P. Time course of endothelial function in epicardial conduit coronary arteries and in the microcirculation in the long-term follow-up after cardiac transplantation. Int J Cardiol. 1996; 53:127-36
- 146. Kapadia SR, Ziada KM, L'Allier PL, Crowe TD, Rincon G, Hobbs RE, Bott-Silverman C, Young JB, Nissen SE, Tuzcu EM. Intravascular ultrasound imaging after cardiac transplantation: advantage of multi-vessel imaging. J Heart Lung Transplant. 2000; 19:167-72
- 147. Wenke K, Meiser B, Thiery J, Nagel D, von Scheidt W, Krobot K, Steinbeck G, Seidel D, Reichart B. Simvastatin initiated early after heart transplantation: 8-year prospective experience. Circulation. 2003; 107:93-7
- 148. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. Nature. 1993; 362:801-9.
- 149. Hiemann NE, Hetzer R, Meyer R. Pathomorphologische Befunde nach Herztransplantation: Eine Monocenterstudie an 15.571 rechtsventrikulären Endomyokardbiopsieproben. Z Herz Thorax Gefäßchirurgie. 2005; 19:209-17
- 150. St Goar FG, Pinto FJ, Alderman EL, Valantine HA, Schroeder JS, Gao SZ, Stinson EB, Popp RL. Intracoronary ultrasound in cardiac transplant recipients. In vivo evidence of "angiographically silent" intimal thickening. Circulation. 1992; 85:979-87.
- 151. St Goar FG, Pinto FJ, Alderman EL, Fitzgerald PJ, Stinson EB, Billingham ME, Popp RL. Detection of coronary atherosclerosis in young adult hearts using intravascular ultrasound. Circulation. 1992; 86:756-63

- 152. Billingham ME. Histopathology of graft coronary disease. J Heart Lung Transplant. 1992; 11:S38-44.
- 153. Wellnhofer E, Bocksch W, Musci M, Hennersdorf F, Lehmkuhl HB, Dreysse S, Hug J, Hetzer R, Fleck E. Chronic decrease of average peak flow velocity in coronary arteries of transplant recipients. Transplant Proc. 1998; 30:909-12.
- 154. Densem CG, Hutchinson IV, Cooper A, Yonan N, Brooks NH. Polymorphism of the transforming growth factor-beta 1 gene correlates with the development of coronary vasculopathy following cardiac transplantation. J Heart Lung Transplant. 2000; 19:551-6
- 155. Gaudin PB, Rayburn BK, Hutchins GM, Kasper EK, Baughman KL, Goodman SN, Lecks LE, Baumgartner WA, Hruban RH. Peritransplant injury to the myocardium associated with the development of accelerated arteriosclerosis in heart transplant recipients. Am J Surg Pathol. 1994; 18:338-46.
- 156. Radovancevic B, Poindexter S, Birovljev S, Velebit V, McAllister HA, Duncan JM, Vega D, Lonquist J, Burnett CM, Frazier OH. Risk factors for development of accelerated coronary artery disease in cardiac transplant recipients. Eur J Cardiothorac Surg. 1990; 4:309-12; discussion 313.
- 157. Holvoet P, Stassen JM, Van Cleemput J, Collen D, Vanhaecke J. Oxidized low density lipoproteins in patients with transplant-associated coronary artery disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1998; 18:100-7.
- 158. Yamani MH, Ratliff NB, Starling RC, Tuzcu EM, Yu Y, Cook DJ, Crow T, Hobbs R, Rincon G, Bott-Silverman C, McCarthy PM, Young JB. Quilty lesions are associated with increased expression of vitronectin receptor (alphavbeta3) and subsequent development of coronary vasculopathy. J Heart Lung Transplant. 2003; 22:687-90
- Ternstrom L, Jeppsson A, Ricksten A, Nilsson F. Tumor necrosis factor gene polymorphism and cardiac allograft vasculopathy. J Heart Lung Transplant. 2005; 24:433-8
- 160. Gao HZ, Hunt SA, Alderman EL, Liang D, Yeung AC, Schroeder JS. Relation of donor age and preexisting coronary artery disease on angiography and intracoronary ultrasound to later development of accelerated allograft coronary artery disease. J Am Coll Cardiol. 1997; 29:623-9.
- 161. Kerman RH, Susskind B, Kerman D, Lam M, Gerolami K, Williams J, Kalish R, Campbell M, Katz S, Van Buren CT, Frazier H, Radovancevic B, Fife S, Kahan B. Comparison of PRA-STAT, sHLA-EIA, and anti-human globulin-panel reactive antibody to identify alloreactivity in pretransplantation sera of heart transplant recipients: correlation to rejection and posttransplantation coronary artery disease. J Heart Lung Transplant. 1998; 17:789-94.
- 162. Mehra MR, Uber PA, Ventura HO, Scott RL, Park MH. The impact of mode of donor brain death on cardiac allograft vasculopathy: an intravascular ultrasound study. J Am Coll Cardiol. 2004; 43:806-10

- 163. Yamani MH, Erinc SK, McNeill A, Ratliff NB, Sendrey D, Zhou L, Cook DJ, Hobbs R, Rincon G, Bott-Silverman C, Young JB, Banbury M, Navia J, Smedira N, Starling RC. The impact of donor gender on cardiac peri-transplantation ischemia injury. J Heart Lung Transplant. 2005; 24:1741-4
- Bryan CF, Mitchell SI, Borkon AM, Curtis J, Demmy T, Estep TH, Moran J. Influence of donor gender on patient mortality after heart transplantation. Transplant Proc. 1996; 28:149-151
- 165. Kannel WB, Larson M. Long-term epidemiologic prediction of coronary disease. The Framingham experience. Cardiology. 1993; 82:137-52
- 166. Labarrere CA. Relationship of fibrin deposition in microvasculature to outcomes in cardiac transplantation. Curr Opin Cardiol. 1999; 14:133-9
- 167. Graff J, Klinkhardt U, Schini-Kerth VB, Harder S, Franz N, Bassus S, Kirchmaier CM. Close relationship between the platelet activation marker CD62 and the granular release of platelet-derived growth factor. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2002; 300:952-7
- 168. Kobashigawa J, Wener L, Johnson J, Currier JW, Yeatman L, Cassem J, Tobis J. Longitudinal study of vascular remodeling in coronary arteries after heart transplantation. J Heart Lung Transplant. 2000; 19:546-50
- 169. Fetzer R, Meyer R, Kaufmann O, Hetzer R. Immunohistological-morphometric examinations to the expression of adhesion molecules and angiogenic growth factors on myocardium after heart transplantation with special consideration to acute rejection episodes. Pathol Res Pract. 1997; 193:89
- 170. Lüscher TF, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent contractions to acetylcholine in the aorta of the spontaneously hypertensive rat. Hypertension. 1986; 8:344-348
- 171. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GM, Alexander RW, Ganz P. Paradoxical vasoconstriction inducted by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. N Engl J Med. 1986; 315:1046-1051
- 172. Christensen CW, Rosen LB, Gal RA, Haseeb M, Lassar TA, Port SC. Coronary Vasodilator Reserve: Comparison of the Effect of Papaverine and Adenosine on Coronary Flow, ventricular Function, and Myocardial Metabolism. Circulation. 1991; 83:294-303
- 173. Sudhir K, MacGregor JS, Barbat SD, Foster E, Fitzgerald PJ, Chatterjee K, Yock PG. Assessment of Coronary Conductance and Resistance Vessel reactivity in Response to Nitroglycerin, Ergonovine and Adenosine: In Vivo Studies With Simultaneous Intravascular Two-Dimensional and Doppler Ultrasound. J Am Coll Cardiol. 1993; 21:1261-1268
- 174. Caracciolo EA, Wolford TL, Underwood RD, Donohue TJ, Bach RG, Miller LW, Kern MJ. Influence of intimal thickening on coronary blood flow responses in orthotopic heart transplant recipients. A combined intravascular Doppler and ultrasound imaging study. Circulation. 1995; 92:II182-II190

- 175. Mazur W, Bitar JN, Young JB, Khalil AA, Vardan S, Short BC, Rivera JM, Raizner AE, Farmer JA, Zoghbi WA, Kleiman NS. Progressive deterioration of coronary flow reserve after heart transplantation. Am Heart J. 1998; 136:504-509
- 176. Patel JK, Ro T, Fishbein MC, Oeser BT, Marquez A, Laks H, Kobashigawa JA. Justification of the newly proposed ISHLT biopsy grading scale by combining grades 1A, 1B, and 2 into one mild rejection grade. J Heart Lung Transplant. 2005; 24:S66
- 177. Billingham ME, Cary NR, Hammond ME, Kemnitz J, Marboe C, McCallister HA, Snovar DC, Winters GL, Zerbe A. A working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart and lung rejection: Heart Rejection Study Group. The International Society for Heart Transplantation. J Heart Transplant. 1990; 9:587-93.
- 178. Mehra MR, Ventura HO, Stapleton DD, Smart FW, Collins TC, Ramee SR. Presence of severe intimal thickening by intravascular ultrasonography predicts cardiac events in cardiac allograft vasculopathy. J Heart Lung Transplant. 1995; 14:632-9
- 179. Knollmann FD, Helmig K, Kapell S, Hummel M, Bocksch W, Hetzer R, Felix R. Coronary artery calcium scoring: diagnostic accuracy of different software implementations. Invest Radiol. 2003; 38:761-8
- Warnecke H, Muller J, Cohnert T, Hummel M, Spiegelsberger S, Siniawski HK, Lieback E, Hetzer R. Clinical heart transplantation without routine endomyocardial biopsy. J Heart Lung Transplant. 1992; 11:1093-102
- 181. Hetzer R, Potapov EV, Muller J, Loebe M, Hummel M, Weng Y, Warnecke H, Lange PE. Daily noninvasive rejection monitoring improves long-term survival in pediatric heart transplantation. Ann Thorac Surg. 1998; 66:1343-9
- 182. Richter MH, Richter HR, Olbrich HG, Mohr FW. Two good reasons for an angiotensin-II type 1 receptor blockade with losartan after cardiac transplantation: reduction of incidence and severity of transplant vasculopathy. Transpl Int. 2003; 16:26-32
- 183. Semiltova N, Shen XD, Fishbein MC, Gao F, Slomowitz SJ, Jiao Q, Mukherjee K, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW, Ghobrial RM. Posttransplant administration of allochimeric major histocompatibility complex class-I-molecules induces true transplantation tolerance. Transplantation. 2003; 75:550-3
- 184. Mehra MR, Ventura HO, Smart FW, Stapleton DD. Impact of converting enzyme inhibitors and calcium entry blockers on cardiac allograft vasculopathy: from bench to bedside. J Heart Lung Transplant. 1995; 14:S246-9
- 185. Reichart B, Meiser BM, Wenke K, Brandl U, Seidel D, Thiery J. What is the role of lipid lowering therapy in heart-allograft failure? Kidney Int Suppl. 1995; 52:S52-5
- 186. Pham SM, Kormos RL, Hattler BG, Kawai A, Tsamandas AC, Demetris AJ, Murali S, Fricker FJ, Chang HC, Jain AB, Starzl TE, Hardesty RL, Griffith BP. A prospective trial of tacrolimus (FK 506) in clinical heart transplantation: intermediate-term results. J Thorac Cardiovasc Surg. 1996; 111:764-72

- 187. Halle AA, 3rd, Wilson RF, Vetrovec GW. Multicenter evaluation of percutaneous transluminal coronary angioplasty in heart transplant recipients. Cardiac Transplant Angioplasty Study Group. J Heart Lung Transplant. 1992; 11:S138-41
- 188. de Boer J, Cohen B, Thorogood J, D'Amaro J, Persijn GG. Results of acute heart retransplantation in Eurotransplant. Transpl Int. 1992; 5 Suppl 1:S219-20
- 189. Hosseinpour AR, Anderson RH, Ho SY. The anatomy of the septal perforating arteries in normal and congenitally malformed hearts. J Thorac Cardiovasc Surg. 2001; 121:1046-52
- 190. Kassab GS. The coronary vasculature and its reconstruction. Ann Biomed Eng. 2000; 28:903-15
- 191. Reig J, Alberti N, Petit M. Arterial vascularization of the human moderator band: an analysis of this structure's role as a collateral circulation route. Clin Anat. 2000; 13:244-50
- 192. Oosthoek PW, Moorman AF, Sauer U, Gittenberger-de Groot AC. Capillary distribution in the ventricles of hearts with pulmonary atresia and intact ventricular septum. Circulation. 1995; 91:1790-8
- 193. Olivetti G, Cigola E, Maestri R, Corradi D, Lagrasta C, Gambert SR, Anversa P. Aging, cardiac hypertrophy and ischemic cardiomyopathy do not affect the proportion of mononucleated and multinucleated myocytes in the human heart. J Mol Cell Cardiol. 1996; 28:1463-77
- 194. Koch A, Bingold TM, Oberlander J, Sack FU, Otto HF, Hagl S, Schnabel PA. Capillary endothelia and cardiomyocytes differ in vulnerability to ischemia/reperfusion during clinical heart transplantation. Eur J Cardiothorac Surg. 2001; 20:996-1001
- Cin VG, Pekdemir H, Camsar A, Cicek D, Akkus MN, Parmaksyz T, Katyrcybay T, Doven O. Diffuse intimal thickening of coronary arteries in slow coronary flow. Jpn Heart J. 2003; 44:907-19
- 196. Hieronymi G. [Angiometric examination of veins and arteries in various age groups.]. Frankf Z Pathol. 1958; 69:18-36
- 197. Gopal S, Narasimhan U, Day JD, Gao R, Kasper EK, Chen CL, Cina S, Robertson AL, Hruban RH. The Quilty lesion enigma: focal apoptosis/necrosis and lymphocyte subsets in human cardiac allografts. Pathol Int. 1998; 48:191-8
- 198. Radio SJ, McManus BM, Winters GL, Kendall TJ, Wilson JE, Costanzo-Nordin MR, Ye YL. Preferential endocardial residence of B-cells in the "Quilty effect" of human heart allografts: immunohistochemical distinction from rejection. Mod Pathol. 1991; 4:654-60
- 199. Tanaka H, Swanson SJ, Sukhova G, Schoen FJ, Libby P. Early proliferation of medial smooth muscle cells in coronary arteries of rabbit cardiac allografts during immunosuppression with cyclosporine A. Transplant Proc. 1995; 27:2062-5
- 200. Hammond EH, Yowell RL, Nunoda S, Menlove RL, Renlund DG, Bristow MR, Gay WA, Jr., Jones KW, O'Connell JB. Vascular (humoral) rejection in heart transplantation: pathologic observations and clinical implications. J Heart Transplant. 1989; 8:430-43

- 201. Muller J, Eubel A, Dandel M, Hummel M, Hetzer R. [Non-invasive monitoring of rejection after cardiac transplantation. The method and retrospective analysis of data on 734 patients]. Dtsch Med Wochenschr. 2001; 126:1223-8
- 202. Rubanyi GM, Johns A, Kauser K. Effect of estrogen on endothelial function and angiogenesis. Vascul Pharmacol. 2002; 38:89-98
- Rider V, Li X, Peterson G, Dawson J, Kimler BF, Abdou NI. Differential expression of estrogen receptors in women with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol. 2006; 33:1093-101
- Thakur MK, Sharma PK. Transcription of estrogen receptor alpha and beta in mouse cerebral cortex: Effect of age, sex, 17beta-estradiol and testosterone. Neurochem Int. 2006;
- 205. Prendergast TW, Furukawa S, Beyer AJ, 3rd, Browne BJ, Eisen HJ, Jeevanandam V. The role of gender in heart transplantation. Ann Thorac Surg. 1998; 65:88-94
- 206. De Santo LS, Marra C, De Feo M, Amarelli C, Romano G, Cotrufo M. The impact of gender on heart transplantation outcomes: a single center experience. Ital Heart J. 2002; 3:419-23
- 207. De la Fuente M, Baeza I, Guayerbas N, Puerto M, Castillo C, Salazar V, Ariznavarreta C, JA FT. Changes with ageing in several leukocyte functions of male and female rats. Biogerontology. 2004; 5:389-400
- 208. Edmunds LH, Jr. Blood-surface interactions during cardiopulmonary bypass. J Card Surg. 1993; 8:404-10
- 209. Hetzer R, Jurmann MJ, Potapov EV, Hennig E, Stiller B, Muller JH, Weng Y. [Heart assist systems--current status]. Herz. 2002; 27:407-17
- 210. Brenner P, Hinz M, Huber H, Schmoeckel M, Reichenspurner H, Meiser B, Hammer C, Reichart B. Influence of ischemic time on hyperacute xenograft rejection of pig hearts in a working heart perfusion model with human blood. Transpl Int. 2000; 13 Suppl 1:S494-503
- 211. Doucette JW, Corl PD, Payne HM, Flynn AE, Goto M, Nassi M, Segal J. Validation of a Doppler guide wire for intravascular measurement of coronary artery flow velocity. Circulation. 1992; 85:1899-911.
- 212. Hollenberg SM, Tamburro P, Johnson MR, Burns DE, Spokas D, Costanzo MR, Parrillo JE, Klein LW. Simultaneous intracoronary ultrasound and Doppler flow studies distinguish flow-mediated from receptor-mediated endothelial responses. Catheter Cardiovasc Interv. 1999; 46:282-8.
- 213. Hsu SM, Raine L, Fanger H. The use of antiavidin antibody and avidin-biotin-peroxidase complex in immunoperoxidase technics. Am J Clin Pathol. 1981; 75:816-21
- 214. Steward M, Bishop R, Piggott NH, Milton ID, Angus B, Horne CH. Production and characterization of a new monoclonal antibody effective in recognizing the CD3 T-cell associated antigen in formalin-fixed embedded tissue. Histopathology. 1997; 30:16-22

- 215. Williamson SL, Steward M, Milton I, Parr A, Piggott NH, Krajewski AS, Angus B, Horne CH. New monoclonal antibodies to the T cell antigens CD4 and CD8. Production and characterization in formalin-fixed paraffin-embedded tissue. Am J Pathol. 1998; 152:1421-6
- 216. Ishii Y, Takami T, Yuasa H, Takei T, Kikuchi K. Two distinct antigen systems in human B lymphocytes: identification of cell surface and intracellular antigens using monoclonal antibodies. Clin Exp Immunol. 1984; 58:183-92
- 217. Pulford KAF, Rigney EM, Micklem KJ, Jones M, Stross WP, Gatter KC, al. e. KP1: a new monoclonal antibody that detects a monocyte/macrophage associated antigen in routinely processed tissue sections. J Clin Pathol. 1989; 42:414-21
- 218. Schimmenti LA, Yan HC, Madri JA, Albelda SM. Platelet endothelial cell adhesion molecule, PECAM-1, modulates cell migration. J Cell Physiol. 1992; 153:417-28.
- 219. Erber WN. Human leucocyte differentiation antigens: review of the CD nomenclature. Pathology. 1990; 22:61-9
- 220. Sieczkiewicz GJ, Herman IM. TGF-beta 1 signaling controls retinal pericyte contractile protein expression. Microvasc Res. 2003; 66:190-6
- 221. Waseem NH, Lane DP. Monoclonal antibody analysis of the proliferating cell nuclear antigen (PCNA). Structural conservation and the detection of a nucleolar form. J Cell Sci. 1990; 96:121-9
- 222. Konomi H, Sano J, Nagai Y. Immunohistochemical localization of type I, III and IV (basement membrane) collagens in the liver. Acta Pathol Jpn. 1981; 31:973-8
- 223. Brouns GS, de Vries E, Neefjes JJ, Borst J. Assembled pre-B cell receptor complexes are retained in the endoplasmic reticulum by a mechanism that is not selective for the pseudo-light chain. J Biol Chem. 1996; 271:19272-8
- 224. Stein H, Gerdes J, Mason DY. The normal and malignant germinal centre. Clin Haematol. 1982; 11:531-59
- 225. Sinclair RA, Burns J, Dunnill MS. Immunoperoxidase staining of formalin-fixed, paraffinembedded, human renal biopsies with a comparison of the peroxidase-antiperoxidase (PAP) and indirect methods. J Clin Pathol. 1981; 34:859-65
- 226. Colecchia M, Leopardi O. [Evaluation of sensitivity and specificity of various staining methods for the detection of myocardial fibrosis]. Pathologica. 1990; 82:413-20
- 227. Bultmann BD, Klingel K, Sotlar K, Bock CT, Baba HA, Sauter M, Kandolf R. Fatal parvovirus B19-associated myocarditis clinically mimicking ischemic heart disease: an endothelial cell-mediated disease. Hum Pathol. 2003; 34:92-5
- 228. Kuhl U, Pauschinger M, Bock T, Klingel K, Schwimmbeck CP, Seeberg B, Krautwurm L, Poller W, Schultheiss HP, Kandolf R. Parvovirus B19 infection mimicking acute myocardial infarction. Circulation. 2003; 108:945-50
- 229. Kaden J, Falck P, Eichler C, Strobelt V, May G, Volk H. Analyse von T-Zellsubpopulationen und Expressionsmustern lymphozytärer Aktivierungsmarker bei Patienten in der

Frühphase nach Nierentransplantation mittels Laser-Durchflußzytometrie. Z Urol Nephrol. 1989; 82:531-9

- 230. Reinke P, Volk H. Diagnsotic and predictive value of an immune monitoring program for complications after kidney transplantation. Urol Int. 1992; 49:69-75
- 231. Volk HD, Reinke P, Docke WD. Immunological monitoring of the inflammatory process: Which variables? When to assess? Eur J Surg Suppl. 1999; 70-2.
- 232. Drews T, Loebe M, Jurmann M, zu Dohna R, Erben M, Hetzer R. Outpatients on biventricular assist devices. Thorac Cardiovasc Surg. 2001; 49:296-9
- 233. Potapov EV, Hennig F, Wagner FD, Volk HD, Sodian R, Hausmann H, Lehmkuhl HB, Hetzer R. Natriuretic peptides and E-selectin as predictors of acute deterioration in patients with inotrope-dependent heart failure. Eur J Cardiothorac Surg. 2005; 27:899-905
- 234. Handler CE, Sowton E. A comparison of the Naughton and modified Bruce treadmill exercise protocols in their ability to detect ischaemic abnormalities six weeks after myocardial infarction. Eur Heart J. 1984; 5:752-5.
- 235. Klauss V, Spes CH, Rieber J, Siebert U, Werner F, Stempfle HU, Uberfuhr P, Theisen K, Angermann CE, Reichart B, Mudra H. Predictors of reduced coronary flow reserve in heart transplant recipients without angiographically significant coronary artery disease. Transplantation. 1999; 68:1477-1481
- 236. Nellessen U, Lee TC, Fischell TA, Ginsburg R, Masuyama T, Alderman EL, Schroeder JS. Effects of acetylcholine on epicardial coronary arteries after cardiac transplantation without angiographic evidence of fixed graft narrowing. Am J Cardiol. 1988; 62:1093-7
- 237. Craig LE, Spelman JP, Strandberg JD, Zink MC. Endothelial cells from diverse tissues exhibit differences in growth and morphology. Microvasc Res. 1998; 55:65-76
- 238. Sage H, Pritzl P, Bornstein P. Secretory phenotypes of endothelial cells in culture: comparison of aortic, venous, capillary, and corneal endothelium. Arteriosclerosis. 1981; 1:427-42
- 239. Wong BW, Wong D, McManus BM. Characterization of fractalkine (CX3CL1) and CX3CR1 in human coronary arteries with native atherosclerosis, diabetes mellitus, and transplant vascular disease. Cardiovasc Pathol. 2002; 11:332-8
- 240. Wu H, Yao Q, Lumsden A, Chen C. Characterization of two populations of human coronary artery endothelial cells(1). J Surg Res. 2004; 118:38-44
- 241. Regitz-Zagrosek V, Fielitz J, Fleck E. Myocardial angiotensin receptors in human hearts. Basic Res Cardiol. 1998; 93 Suppl 2:37-42
- 242. Zhu YC, Zhu YZ, Gohlke P, Stauss HM, Unger T. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II AT1 receptor antagonism on cardiac parameters in left ventricular hypertrophy. Am J Cardiol. 1997; 80:110A-117A
- 243. Lin Y, Vandeputte M, Waer M. Accommodation and T-independent B cell tolerance in rats with long term surviving hamster heart xenografts. J Immunol. 1998; 160:369-75

- 244. DeLisser HM, Newman PJ, Albelda SM. Platelet endothelial cell adhesion molecule (CD31). Curr Top Microbiol Immunol. 1993; 184:37-45.
- 245. Iwasaki H, Kawamoto A, Ishikawa M, Oyamada A, Nakamori S, Nishimura H, Sadamoto K, Horii M, Matsumoto T, Murasawa S, Shibata T, Suehiro S, Asahara T. Dose-dependent contribution of CD34-positive cell transplantation to concurrent vasculogenesis and cardiomyogenesis for functional regenerative recovery after myocardial infarction. Circulation. 2006; 113:1311-25
- 246. Papetti M, Shujath J, Riley KN, Herman IM. FGF-2 antagonizes the TGF-beta1-mediated induction of pericyte alpha-smooth muscle actin expression: a role for myf-5 and Smad-mediated signaling pathways. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2003; 44:4994-5005
- 247. Verbeek MM, Otte-Holler I, Wesseling P, Ruiter DJ, de Waal RM. Induction of alphasmooth muscle actin expression in cultured human brain pericytes by transforming growth factor-beta 1. Am J Pathol. 1994; 144:372-82
- 248. Nehls V, Denzer K, Drenckhahn D. Pericyte involvement in capillary sprouting during angiogenesis in situ. Cell Tissue Res. 1992; 270:469-74
- 249. Knox AJ, Corbett L, Stocks J, Holland E, Zhu YM, Pang L. Human airway smooth muscle cells secrete vascular endothelial growth factor: up-regulation by bradykinin via a protein kinase C and prostanoid-dependent mechanism
- 10.1096/fj.01-0256com. FASEB J. 2001; 15:2480-2488
- Velarde V, Ullian ME, Morinelli TA, Mayfield RK, Jaffa AA. Mechanisms of MAPK activation by bradykinin in vascular smooth muscle cells. Am J Physiol Cell Physiol. 1999; 277:C253-261
- 251. Hernandez-Hernandez R, Armas-Padilla MC, Velasco M, Carvajal AR, Armas de Hernandez MJ, Guerrero-Pajuelo J, Pacheco B. Effects of amlodipine and enalapril on platelet function in patients with mild to moderate hypertension. Int J Clin Pharmacol Ther. 1999; 37:323-31.
- 252. Athanassopoulos P, Vaessen LM, Balk AH, Takkenberg JJ, Maat AP, Weimar W, Bogers AJ. Impaired circulating dendritic cell reconstitution identifies rejecting recipients after clinical heart transplantation independent of rejection therapy. Eur J Cardiothorac Surg. 2005; 27:783-9
- Vollenweider I, Groscurth P. Ultrastructure of cell mediated cytotoxicity. Electron Microsc Rev. 1991; 4:249-67
- 254. Valantine HA. The role of viruses in cardiac allograft vasculopathy. Am J Transplant. 2004; 4:169-77
- 255. Auch-Schwelk W, Bossaller C, Gotze S, Thelen J, Fleck E. Endothelial and vascular smooth muscle function after chronic treatment with cyclosporin A. J Cardiovasc Pharmacol. 1993; 21:435-40
- 256. Diederich D, Skopec J, Diederich A, Dai FX. Cyclosporine produces endothelial dysfunction by increased production of superoxide. Hypertension. 1994; 23:957-61

- 257. Gotze S, Auch-Schwelk W, Bossaller C, Thelen J, Fleck E. Preventive effects of diltiazem on cyclosporin A-induced vascular smooth muscle dysfunction. Transpl Int. 1994; 7:157-62
- 258. Poggi A, Zocchi MR. Cyclosporin A regulates human NK cell apoptosis induced by soluble HLA-I or by target cells. Autoimmun Rev. 2005; 4:532-6
- 259. Shankarkumar U, Ghosh K, Pradhan VD, Badakere SS, Mohanty D. Immunogenetic association in patients with antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) from Mumbai, Maharashtra, India. J Autoimmun. 2005; 24:227-33
- 260. Ballieux BE, van der Burg SH, Hagen EC, van der Woude FJ, Melief CJ, Daha MR. Cellmediated autoimmunity in patients with Wegener's granulomatosis (WG). Clin Exp Immunol. 1995; 100:186-93
- 261. Moriuchi J, Wakisaka A, Aizawa M, Yasuda K, Yokota A, Tanabe T, Itakura K. HLA-linked susceptibility gene of Takayasu Disease. Hum Immunol. 1982; 4:87-91
- 262. Hrda P, Sterzl I, Matucha P, Korioth F, Kromminga A. HLA antigen expression in autoimmune endocrinopathies. Physiol Res. 2004; 53:191-7
- 263. Fogdell-Hahn A, Ligers A, Gronning M, Hillert J, Olerup O. Multiple sclerosis: a modifying influence of HLA class I genes in an HLA class II associated autoimmune disease. Tissue Antigens. 2000; 55:140-8
- 264. Karmazsin L, Ambro I, Stenszky V, Kozma L, Balazs C, Svetlana K. HLA-antigens and some autoimmune features of juvenile diabetes mellitus. Acta Paediatr Acad Sci Hung. 1979; 20:11-19
- 265. Loiseau P, Lepage V, Djelal F, Busson M, Tamouza R, Raffoux C, Menkes CJ, Meyer O, Charron D, Goldberg D. HLA class I and class II are both associated with the genetic predisposition to primary Sjogren syndrome. Hum Immunol. 2001; 62:725-31
- 266. Kumar R, Vaidya MC, Kailash S. HLA antigens in Indian population with non-specific aortoarteritis. Indian Heart J. 1990; 42:85-7
- 267. Privalov VA, Vasil'ev SA. [Immunological reactivity and the HLA system antigens in patients with autoimmune thyroiditis and nodular euthyroid goiter]. Probl Endokrinol (Mosk). 1989; 35:22-7
- 268. Gow P, Hathaway M, Gunson B, Heward J, Mutimer D. Association of fulminant non-A non-B hepatitis with homozygosity for HLA A1-B8-DR3. J Gastroenterol Hepatol. 2005; 20:555-61
- 269. Ulgiati D, Abraham LJ. Comparative analysis of the disease-associated complement C4 gene from the HLA-A1, B8, DR3 haplotype. Exp Clin Immunogenet. 1996; 13:43-54
- 270. Abdel-Khalik A, Paton L, White AG, Urbaniak SJ. Human leucocyte antigens A, B, C, and DRW in idiopathic "warm" autoimmune haemolytic anaemia. Br Med J. 1980; 280:760-1
- 271. Kastelan M, Gruber F, Cecuk E, Kerhin-Brkljacic V, Brkljacic-Surkalovic L, Kastelan A. Analysis of HLA antigens in Croatian patients with psoriasis. Acta Derm Venereol Suppl (Stockh). 2000; 12-3

- 272. Osa A, Almenar L, Palencia M, Puig N, Chirivella M, Montoro J. Antigens of the major histocompatibility system in ischemic heart disease and idiopathic dilated cardiomyopathy. Clin Cardiol. 1999; 22:292-6
- 273. Kuhnl P, Sibrowski W, Kalmar G, Holzmann H, Sollberg S, Bohm BO. HLA-antigen frequencies in patients with progressive systemic sclerosis and morphea. Beitr Infusionsther. 1990; 26:287-9
- 274. Aydogan K, Karadogan SK, Akdag I, Tunali S. HLA class I and class II antigens in Turkish patients with chronic ordinary urticaria. Clin Exp Dermatol. 2006; 31:424-9
- 275. Wan XL, Kimura A, Dong RP, Honda K, Tamai H, Sasazuki T. HLA-A and -DRB4 genes in controlling the susceptibility to Hashimoto's thyroiditis. Hum Immunol. 1995; 42:131-6
- 276. Ichiki Y, Shimoda S, Hara H, Shigematsu H, Nakamura M, Hayashida K, Ishibashi H, Niho Y. Analysis of T-cell receptor beta of the T-cell clones reactive to the human PDC-E2 163-176 peptide in the context of HLA-DR53 in patients with primary biliary cirrhosis. Hepatology. 1997; 26:728-33
- 277. Lousa M, Pardo A, Arnaiz-Villena A, Jimenez-Escrig A, Gobernado J. Histocompatibility Class I and II Antigens in Extensive Kindred With Sneddon's Syndrome and Related Hypercoagulation Disorders. Hum Immunol. 2007; 68:26-9
- 278. Rosloniec EF, Whittington KB, He X, Stuart JM, Kang AH. Collagen-induced arthritis mediated by HLA-DR1 (\*0101) and HLA-DR4 (\*0401). Am J Med Sci. 2004; 327:169-79
- 279. Sireci G, Dieli F, Caccamo N, Barera A, Carta P, Di Sano C, Meraviglia S, Bonanno CT, Salerno A. A human leucocyte antigen-DR1 transgene confers susceptibility to experimental allergic encephalomyelitis elicited by an epitope of myelin basic protein. Scand J Immunol. 2003; 58:188-94
- 280. Imagawa A, Hanafusa T, Uchigata Y, Kanatsuka A, Kawasaki E, Kobayashi T, Shimada A, Shimizu I, Maruyama T, Makino H. Different contribution of class II HLA in fulminant and typical autoimmune type 1 diabetes mellitus. Diabetologia. 2005; 48:294-300
- 281. Nomura S, Matsuzaki T, Ozaki Y, Yamaoka M, Yoshimura C, Katsura K, Xie GL, Kagawa H, Ishida T, Fukuhara S. Clinical significance of HLA-DRB1\*0410 in Japanese patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. Blood. 1998; 91:3616-22
- 282. Goldberg AC, Bittencourt PL, Mougin B, Cancado EL, Porta G, Carrilho F, Kalil J. Analysis of HLA haplotypes in autoimmune hepatitis type 1: identifying the major susceptibility locus. Hum Immunol. 2001; 62:165-9
- 283. Rands AL, Whyte J, Cox B, Hall ND, McHugh NJ. MHC class II associations with autoantibody and T cell immune responses to the scleroderma autoantigen topoisomerase I. J Autoimmun. 2000; 15:451-8
- 284. Boehm BO, Kuhnl P, Loliger C, Ketzler-Sasse U, Holzberger G, Seidl S, Bauerle R, Schifferdecker E, Usadel KH. HLA-DR3 and HLA-DR5 confer risk for autoantibody positivity against the thyroperoxidase (mic-TPO) antigen in healthy blood donors. Clin Investig. 1993; 71:221-5

- 285. Taneja V, Mehra NK, Sarin SK, Sharma BK, Vaidya MC. Possible HLA influence in governing susceptibility to non-cirrhotic portal fibrosis. Tissue Antigens. 1987; 30:184-7
- 286. Turkcapar N, Kinikli G, Sak SD, Duman M. Specific immunotherapy-induced Sjogren's syndrome. Rheumatol Int. 2005; 26:182-4
- 287. Nachtsheim DA, Rearden A. Peyronie's disease is associated with an HLA class II antigen, HLA-DQ5, implying an autoimmune etiology. J Urol. 1996; 156:1330-4
- 288. Duvefelt K, Anderson M, Fogdell-Hahn A, Hillert J. A NOTCH4 association with multiple sclerosis is secondary to HLA-DR\*1501. Tissue Antigens. 2004; 63:13-20
- 289. Tvedegaard E. Arterial disease in chronic renal failure--an experimental study in the rabbit. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand Suppl. 1987; 290:1-28.

## VI. Erklärung

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

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde,
- welchen Ausgang ein durchgeführtes Habilitationsverfahren hatte,
- 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.

Berlin, den 19.11.2007

.....

Dr. med. Nicola Erika Hiemann