

Aus der „Stabsstelle HLA-Labor des Klinikumsvorstandes“  
am Universitätsklinikum Halle (Saale)

Dekan:  
Prof. Dr. med. Michael Gekle

**Untersuchung humoraler und zellulärer Abstoßungsreaktionen bei  
allogener Gefäßtransplantation**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt  
der Medizinischen Fakultät  
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Holger Martin Konrad  
geboren am 24.08.1983 in Fürth (Bay.)  
Betreuer: Herr PD Dr. rer. nat. rer. medic. habil. Gerald Schlaf

Gutachter/Gutachterin: Herr PD Dr. rer. nat. rer. medic. habil. Gerald Schlaf  
Frau PD Dr. med. Dagmar Riemann  
Herr Professor Rainer Blasczyk (Universität Hannover)

12.07.2016  
23.03.2017

## Referat

Zwischen November 2000 und Dezember 2009 wurden am Universitätsklinikum Leipzig 67 Patienten mit der Diagnose „Gefäßbypassentzündung“ mit dem kurativen Behandlungsansatz einer allogenen arteriellen Gefäßtransplantation behandelt, um schwerwiegende Folgen wie Sepsis, Amputation und Tod zu verhindern. Die Kompatibilitäten von Blutgruppen (A/B/0-System) und HLA-Merkmalen zwischen Spendergefäßen und Empfängern fanden hierbei keine Berücksichtigung. Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit bestand darin i) die therapeutische Effizienz der Arterientransplantate bei der Behandlung von Gefäßbypassinfektionen zu evaluieren, ii) gegen HLA-Merkmale des Spendergewebes gerichtete anti-HLA Antikörperreaktionen im Empfängerorganismus nachzuweisen und iii) die transplantatgerichtete humorale Abstoßungsreaktion mit den klinischen Verläufen und mikroskopischen postoperativen Untersuchungen zu vergleichen, um den Einfluss der ungünstigen allogenen transplantationsimmunologischen Gegebenheiten auf das klinische Ergebnis zu beurteilen.

Es wurden zunächst prä- und postoperative Empfängerserumproben mittels Dynachip™ oder Luminex100™ HLA-Analyse auf anti-HLA Klasse I und II Antikörper untersucht. Diese wurden anschließend mit den typisierten HLA-Merkmalen bzw. Allelen der Spender verglichen (virtuelle Verträglichkeitsprobe), um ggf. eine Spender-spezifische Immunreaktion gegen die Gefäßtransplantate nachzuweisen (44 Transplantate). Neben den klinischen und funktionellen Nachuntersuchungen aller 67 Patienten wurden neun Spenderarterien prä- und postoperativ mikroskopisch auf eine aus den anti-HLA Immunreaktionen resultierende Abstoßungspathologie untersucht.

So wurde zunächst eine massive Donor-spezifische anti-HLA Antikörperbildung bei 89% der transplantierten Patienten mit einem durchschnittlichen Anstieg der HLA-Panelreaktivität von 71% je Transplantation nachgewiesen. Die Transplantation führte bei den transplantierten Gefäßen zunächst zu leichten Entzündungsreaktionen und im weiteren Verlauf zu einer transmuralen fibrotischen Kollagenisierung. Diese pathologischen Befunde könnten die Ursache für die postoperativen Thrombosierungen sein, die mit einer Rate von 18% die Hauptkomplikationen dieser Methode darstellen. Die Daten legen nahe, dass in Analogie zu den Transplantationen solider Organe durch eine geeignete d.h. HLA-kompatible Spender-/Empfängerauswahl auch bei allogenen arteriellen Transplantationen eine humorale anti-HLA Abstoßungspathologie reduziert oder vermieden werden kann.

*Konrad, Holger: Untersuchung humoraler und zellulärer Abstoßungsreaktionen bei allogener Gefäßtransplantation. Halle (Saale), Univ., Med. Fak., Diss., 80 Seiten, 2016*

## Inhaltsverzeichnis

	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	III
<b>1.</b>	<b>Einleitung</b>	1
1.1.	Gefäßprotheseninfektionen	1
1.1.1.	Die Inzidenz von Gefäßprotheseninfektionen	1
1.1.2.	Klassifizierungen von Gefäßbypassinfektionen	1
1.1.3.	Risikofaktoren von Bypassinfektionen	2
1.1.4.	Klinische Aspekte und Diagnostik bei Bypassinfektionen	3
1.1.5.	Das Keimspektrum bei Bypassinfektionen	3
1.1.6.	Behandlungsmöglichkeiten bei Gefäßbypassinfektionen	4
1.1.7.	Komplikationen in der Folge der Bypassoperationen	5
1.2.	Die junge Historie der allogenen arteriellen Gefäßtransplantation	5
1.3.	Immungenetische Grundlagen	8
1.3.1.	Das HLA-System	8
1.3.2.	Aufbau und Funktion der HLA-Gene und HLA-Moleküle	10
1.4.	Histopathologische Veränderungen der Gefäße im Rahmen von akuten und chronischen humoralen und zellulären Abstoßungsreaktionen	13
<b>2.</b>	<b>Zielstellungen</b>	15
<b>3.</b>	<b>Material und Methoden</b>	17
3.1.	Patienten	17
3.1.1.	Die Kohorte dieser Studie	17
3.1.2.	Risikofaktoren und Begleiterkrankungen der Patienten	18
3.1.3.	Die präoperative klinische Untersuchung	22
3.1.4.	Herkunft und Vorbereitung der allogenen Gefäßtransplantate	22
3.2.	Charakterisierung der allogenen arteriellen Gefäßtransplantate	23
3.3.	Anfertigung perioperativer mikrobiologischer Abstriche	24
3.4.	Status der explantierten entzündeten Gefäßbypässe	25
3.5.	Postoperativer Verlauf nach der Transplantation	26
3.6.	Geräte und Reagenzien	26
3.6.1.	Verwendete Komplettsysteme / KITS	26
3.6.2.	Verwendete Geräte	27

3.6.3.	Verwendete Reagenzien	27
3.7.	Methoden	28
3.7.1.	QUIKSCREEN® (anti-HLA Klasse I) und B-SCREEN® (anti-HLA Klasse II) ELISA zum Nachweis von anti-HLA-Antikörpern	28
3.7.2.	Luminex™-Technologie zur Identifizierung und Spezifizierung einer Antikörper-vermittelten anti-HLA Immunantwort	30
3.7.3.	Dynachip™ Analyse zur anti-HLA Antikörper Spezifizierung und Festlegung des anti-HLA Antikörper Reaktionspanels (Panel-Reactive-Antibodies/PRA%)	33
<b>4.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>36</b>
4.1.	Der klinische Verlauf nach den Gefäßtransplantationen	36
4.1.1.	Heilungsrate und Therapieversagen der allogenen Gefäßtransplantationen	36
4.1.2.	Auftreten operationsspezifischer Komplikationen, die nach den Gefäßtransplantationen zu beobachten waren	36
4.1.3.	Analyse der Mortalität der Patienten	40
4.2.	Die postoperative humorale und zelluläre Immunantwort	41
4.2.1.	Entwicklung einer humoralen anti-HLA Antikörperreaktion der gefäßtransplantierten Patienten	41
4.2.2.	Histologische Analyse der entnommenen Gefäßtransplantate auf zelluläre und humorale Abstoßungsreaktionen	49
<b>5.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>52</b>
5.1.	Klinische Risikoanalyse des Patientenkollektivs der vorliegenden Arbeit im Vergleich zu den Kollektiven anderer Studien	52
5.2.	Nachweis der gegen HLA-Antigene des Spendergefäßes gerichteten humoralen Immunantwort und resultierende Bewertung dieses schädlichen Faktors	58
5.3.	Beurteilung der postoperativen histologischen Veränderungen allogener transplanterter arterieller Gefäße vor dem Hintergrund der massiven humoralen Immunantwort	63
5.4.	Ausblick	65
<b>6.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>67</b>
<b>7.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>69</b>
<b>8.</b>	<b>Thesen</b>	<b>79</b>

## Abkürzungsverzeichnis

aHT	Arterielle Hypertonie
AMI	Akuter Myokardinfarkt
APC	Antigen-präsentierende Zelle
BAA	Bauchaortenaneurysma
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
DGFG	Deutsche Gesellschaft für Gewebetransplantation
DSO	Deutsche Stiftung Organtransplantation
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
HLA	Human Leukocyte Antigen
KHK	Koronare Herzkrankheit
KM	Kontrastmittel
MHC	Major Histocompatibility Complex
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
MRT	Magnetresonanztomographie
MZ	Multizentrisch
pAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PRA(%)	Prozentualer Wert der anti-HLA Panelreaktivität

## 1. Einleitung

### 1.1. Gefäßprotheseninfektionen

#### 1.1.1. Die Inzidenz von Gefäßprotheseninfektionen

Neben Harnwegsinfekten (40%) und Pneumonien der unteren Atemwege (20%) stellen postoperative Wundinfektionen (15%) die dritthäufigste nosokomiale Infektionsart dar [1]. In der Gefäßchirurgie kommt es im Wundgebiet postoperativ in 0,5-3% der Fälle zu einer Infektion, wobei sich die Infektionsraten aufgrund der verbesserten hygienischen Verhältnisse in den letzten Jahrzehnten stark verringert haben [2,3]. Neben vielen anderen Risikofaktoren spielen Lokalisation und Art des Eingriffs eine große Rolle für das Auftreten von Infektionen. Als risikoreich sind Bypassoperationen an kleinkalibrigen peripheren Arterien bei einem hohen Stadium der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK) anzusehen. Auf den aortalen großlumigen Bereich beschränkte Infektionen treten dagegen eher selten auf [3]. Tabelle 1 zeigt die Häufigkeit einer Gefäßprotheseninfektion bezogen auf deren Lokalisation [3].

**Tab.1:** Infektionsraten bei verschiedenen Lokalisationen von Gefäßprothesenanlagen

Aorto - iliacal	< 0,5%
Aorto - femoral	2%
Femoro - popliteal	2,5%
Nicht - anatomisch	1%

#### 1.1.2. Klassifizierungen von Gefäßbypassinfektionen

Szilagyı beschrieb im Rahmen von Operationen mit Gefäßersatz für die Verwendung von alloplastischen (künstlichen) Materialien eine bedeutend höhere Anzahl von tiefen Wund- und Protheseninfektionen als bei autolog (körpereigen) transplantiertem Gewebe. Oberflächliche Infektionen vom Grad I und II (siehe Tab. 2) finden sich allerdings häufiger bei autologem Gefäßersatz, was auf eine größere Gewebetraumatisierung zurückzuführen ist [4]. In diesem Kontext formulierte Szilagyı 1972 erstmalig eine Einteilung der Gefäßprotheseninfektionen, die sich nach dem morphologischen Schweregrad richtet [4]:

**Tab. 2:** Klassifizierung der Gefäßprotheseninfektion nach Szilagyı

<b>Grad 1:</b> Oberflächliche postoperative Infektionen, die auf die Haut begrenzt bleiben
<b>Grad 2:</b> Oberflächliche postoperative Infektionen, die Haut und Subkutis infiltrieren
<b>Grad 3:</b> Tiefe postoperative Infektionen, die das Prothesenlager und -material betreffen

Zühlke und Harnoß (1988) veröffentlichten eine erweiterte Einteilung der tiefen Gefäßprotheseninfektionen [5]:

**Tab 3.:** Klassifizierung der tiefen Gefäßprotheseninfektionen nach Zühlke/Harnoß

<b>Stadium I:</b> Protheseninfektion ohne Beteiligung einer Anastomose
<b>Stadium II:</b> Protheseninfektion mit Beteiligung mindestens einer Anastomose ohne weitere Komplikationen
<b>Stadium III:</b> Protheseninfektion mit Beteiligung mindestens einer Anastomose und Komplikationen wie Anastomosenblutung oder Implantatverschuß

Infektionen im Bereich der Gefäßchirurgie werden an Krankenhäusern heute im Modul OP-KISS (Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System) einheitlich für Eingriffe an der Aorta, der A. carotis und für periphere Eingriffe erfasst [6].

### 1.1.3. Risikofaktoren von Bypassinfektionen

Gerade gefäßchirurgische Patienten sind häufig mit Risikofaktoren behaftet, die auch bei der Epidemiologie von postoperativen Wundinfektionen eine negative Auswirkung haben. In Tab. 4 sind wesentliche Faktoren aufgelistet, die hierbei zu berücksichtigen sind [7].

**Tab.4:** Risikofaktoren für Wundinfektionen

patienteneigen	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Vor-/Begleiterkrankungen (z.B. Diabetes mellitus)</li> <li>- begleitende Infektionen an anderer Körperstelle</li> <li>- Besiedlung mit <i>Staphylococcus aureus</i> (z.B. nasal)</li> <li>- Adipositas</li> <li>- Rauchen</li> <li>- maligne Erkrankungen/Tumorstadium</li> <li>- Immunsuppression</li> <li>- Anämie</li> </ul>
prä- und perioperativ	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dauer des präoperativen Krankenhausaufenthaltes</li> <li>- mangelnde Haarentfernung, Hautdesinfektion oder Antibiose</li> <li>- Abweichung von der physiologischen Körpertemperatur</li> <li>- Hypoxie/Oxygenierung</li> </ul>
operations-spezifisch	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dauer der Eingriffe, Operationstechnik und Blutstillung</li> <li>- Art des Eingriffes (z.B. Notfall- oder Elektiveingriff, Kontamination)</li> <li>- Implantate und Fremdkörper</li> </ul>

postoperativ	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Drainage (Art und Dauer)</li> <li>- postoperative Maßnahmen, die mit Bakteriämie einhergehen (z.B. Thrombendarteriektomie)</li> <li>- Wundversorgung</li> <li>- Art der postoperativen Ernährung</li> </ul>
--------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### 1.1.4. Klinische Aspekte und Diagnostik bei Bypassinfektionen

Tiefe Protheseninfektionen sind häufig schwer zu diagnostizieren. Eine schmerzhafte Rötung und Schwellung in der Leiste ist vor allem bei femoralem Infekt als Fokus der Entzündung erkennbar. Floride Entzündungen an dieser Stelle führen in der Mehrheit der Fälle zu einer Abszessbildung mit Wundsekretion. Die klinische Symptomatik ist aber teilweise nur schwach ausgeprägt und wird nicht selten erst aufgrund von Blutungen nach Pseudoaneurysmabildungen und Rupturen an der Anastomose auffällig. Andere Komplikationen einer Bypassinfektion treten in Form von Fieber, Stenose, Fistelung und Sepsis bis hin zum Multiorganversagen in Erscheinung [5,8]. Der Zeitpunkt der Entzündung wird in Früh- (< 4 Monate) und Spätinfektion (> 4 Monate nach Bypassanlage) eingeteilt [9]. Frühinfektionen zeigen häufiger Merkmale wie Fieber und erhöhte Werte für das C-reaktive Protein (CRP) auf als Spätinfektionen, wobei diese Anzeichen aber auch gänzlich fehlen können. Folglich muss die Diagnose oft klinisch gestellt werden [8]. So wird die sonographische Untersuchung als Basisdiagnostik verwendet. Hier können Aneurysmen nachgewiesen und Abszesse oder entzündliche Flüssigkeitsansammlungen beurteilt und punktiert werden. Als radiologische Zusatzdiagnostik bei unklaren Befunden werden die Computertomographie (CT), Magnetresonanztomographie (MRT), Positronen-Emissions-Tomographie (PET), Szintigraphie und die Fistulographie eingesetzt [5,9].

#### 1.1.5. Das Keimspektrum bei Bypassinfektionen

Bei allen Patienten werden für die Identifizierung des Keimspektrums prä- oder perioperativ Abstriche aus der Wunde entnommen. Es können auch Gewebeprobe oder periprothetischer Wundsekret für die mikrobiologische Untersuchung verwendet werden. Man unterscheidet Einzelkeiminfektionen (Nachweis eines isolierten Erregers) von Mischinfektionen. Über die letzten Jahrzehnte trat *Staphylococcus aureus* als der dominierende Erreger der Gefäßprotheseninfektionen auf, wobei sich die Inzidenz der verschiedenen Erreger in ihrer Häufigkeit in den letzten Jahrzehnten verändert hat. Neben Koagulase-negativen Staphylokokken (besonders *Staph. epidermidis*) werden am häufigsten gram-positive Kokken (besonders *Enterococcus faecalis*) isoliert. Des

Weiteren werden *Escheria coli* und *Pseudomonas aeruginosa* als Vertreter der gram-negativen Keime erwähnt. Als weitere Beispiele gram-negativer Keime sind Enterobacter und Klebsiellen aufgeführt [10]. Trotz eines Infektstadiums vom Grad 3 (siehe Tab. 3) können in 23% der Fälle keine Erreger nachgewiesen werden. Mischinfektionen werden mit einer Häufigkeit von 20% beobachtet [11].

#### **1.1.6. Behandlungsmöglichkeiten bei Gefäßbypassinfektionen**

Gefäßbypassinfektionen erhöhen drastisch die frühe und späte postoperative Sterblichkeit sowie die Amputationsrate bei kontaminiertem Prothesenlager [12], so dass diese Patienten im Fokus der gefäßchirurgischen Forschung stehen. Eine konservative Behandlung mit systemischer Antibiose, Wundtoilette und Vakuumtherapie ist nur bei lokal umschriebener Entzündung oder hohem OP-Risiko angezeigt und kann häufig keine Ausheilung der Infektion bewirken [13]. Eine einheitliche Meinung zur Durchführung einer komplikationsarmen Therapieform gibt es bisher nicht, so dass neben der konservativen Therapie unterschiedliche operative Methoden und Materialien verwendet werden [14]. In gängigen Leitlinien der Chirurgie werden verschiedene therapeutische Interventionsmöglichkeiten beschrieben [15,16,17], während ein "Goldstandard" nicht existiert [14]. Bei einer *in-situ*-Rekonstruktion wird diese anatomisch am Ort der Infektion vorgenommen, während bei der *ex-situ*-Rekonstruktion (z.B. ein axillo-(-bi)-femorale Bypass) ein nicht-anatomischer (sog. extra-anatomischer) Bypass außerhalb des infizierten Prothesenlagers angelegt wird [18]. Bei der Anlage eines neuen Bypasses wird die infizierte Prothese in der Regel komplett exzidiert, kann jedoch auch nur teilweise ausgebaut werden. Der teilweise Ausbau ist aufgrund der deutlich höheren Reinfektionsrate nur in Ausnahmefällen durchzuführen [11]. Ist trotz aller Bemühungen keine Ausheilung der Infektion möglich, muss als *ultima ratio* häufig eine Extremitätenamputation durchgeführt werden. Diese wird in Minoramputation (bis einschließlich Chopart) und Majoramputation eingeteilt [19]. Aufgrund nicht zufriedenstellender Ergebnisse nach dem Austausch der infizierten Prothesen durch herkömmliche alloplastische Prothesen wird heute verstärkt mit künstlichem Material gearbeitet, das entweder silberbeschichtet oder antibiotikage tränkt ist, um bessere Erfolge zu erzielen. Jedoch sind auch unter Verwendung dieser „infektresistenten“ Alloplastiken Komplikationen und persistierende oder wiederkehrende Infektionen bekannt [11,20]. Dem primären Therapieversuch entspricht die autologe Wiederherstellung durch Implantation einer Eigenvene [21], wobei das zu diesem Zweck benötigte Venenmaterial aber nur in seltenen Fällen verfügbar ist. Somit ist die homologe Revaskularisierung durch ein arterielles allogenes (menschliches, aber

einem anderen Individuum entnommenes) Transplantat (sog. Homograft/Allograft) eine Möglichkeit, die mittlerweile von vielen Forschern und Operateuren als evaluierte Methode beschrieben wird, um Bypassinfektionen zu kurieren. Die allogene Arterientransplantation wird ebenso in den gängigen Leitlinien zu Gefäßprotheseninfektionen als Therapieoption erwähnt.

#### **1.1.7. Komplikationen in der Folge der Bypassoperationen**

Die häufigsten Komplikationen nach Gefäßbypassoperationen sind rezidivierende thrombotische Vorgänge, die als Sofort- (innerhalb 48h), Früh- (innerhalb des ersten postoperativen Jahres) oder auch als Spätverschlüsse (nach dem ersten postoperativen Jahr) auftreten können [22]. Ebenso sind Aussackungen an der Nahtstelle (sog. Pseudoaneurysmen) eine häufige Komplikation bei wiederherstellenden Eingriffen im arteriellen System, aufgrund derer häufig Revisionen mit Erneuerung der Anastomose durchgeführt werden müssen. Teilweise sind peri- und postoperative Blutungen zu beobachten, durch welche die Patienten transfusionspflichtig werden können. Eine mechanische Wandinsuffizienz durch industrielle Materialschäden bei Verwendung von alloplastischen Prothesen mit Porösität oder Ruptur wird dagegen kaum mehr beobachtet. Als meist unkomplizierte Komplikation kann das postoperative Gliedmaßenödem in Erscheinung treten. Letztlich stellen die postoperativen Wundinfektionen unter Beteiligung des Bypasses die am meisten gefürchtete Komplikation dar, weil sie zu einem septischen Herd im Kreislaufsystem werden und sowohl die Mortalität (20-40%) als auch die Amputationsraten erhöhen [22].

#### **1.2. Die junge Historie der allogenen arteriellen Gefäßtransplantation**

Die Pioniere der Organübertragung ebneten durch experimentelle Forschung den Weg zur modernen Transplantationsmedizin, indem verbesserte Standards bei Konservierung und Transport der Organe geschaffen wurden, um die Ergebnisse von Transplantationen zu optimieren. In der modernen Medizin konnten zusätzlich durch immungenetisch/immunologische Erkenntnisse und pharmakologische Behandlungsoptionen, welche Abstoßungen der übertragenen Organe stark reduziert haben, erhebliche Verbesserungen des Transplantatüberlebens erreicht werden. Die Verpflanzung von allogenen *post mortem* Gefäßen wurde im Gebiet der modernen Gefäßchirurgie zunächst nicht angewendet, was vorrangig auf die guten Ergebnisse beim etablierten Einsatz von körpereigenen (autologen) Venen und von synthetischen Prothesen zurückzuführen war.

Mittlerweile hat die Arterientransplantation jedoch ein klares Profil bekommen, nachdem die Arbeitsgruppe um Kieffer im Jahre 1991 das ungelöste Problem der kurierenden Behandlung von infizierten Gefäßbypässen unter Verwendung allogener Gefäßtransplantate zu lösen versuchte [23]. Eine entsprechende Patientenstudie wurde von Kieffer et al. als Nachuntersuchung von mittlerweile 179 Patienten mit dieser Indikation veröffentlicht [24]. In der Folge lieferten mehrere internationale und nationale Arbeitsgruppen (auch multizentrisch, siehe Abk. MZ in Tab. 5) gute Ergebnisse von Arterientransplantationen als Therapie einer Gefäßprotheseninfektion. Chirurgen, welche diese Methode anwenden, vereint die Idee, dass natürliches Material die immunologischen Abwehrmechanismen gegen das entzündliche Geschehen verbessert. Die infizierten Gefäßprothesen, welche als permanenter Entzündungsherd in Erscheinung treten, werden entfernt und durch gesundes biologisches Material ersetzt. In Tabelle 5 werden die entsprechenden Veröffentlichungen der Jahre 1994 bis 2011 vollständig aufgeführt. Diese bilden in der Diskussion die Grundlage zum Vergleich mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit.

**Tab. 5:** Veröffentlichungen zu Arterientransplantationen von 1994 bis 2011

<b>Autoren</b>	<b>Jahr</b>	<b>Ort</b>	<b>Transplantate gesamt (kryokonserviert / frisch)</b>	<b>Quelle</b>
Kniemeyer et al.	1994	Düsseldorf	1 (1 / 0)	[25]
Da Gama et al.	1994	Lissabon	16 (16 / 0)	[26]
Desgranges et al.	1996	Cretèil	18 (18 / 0)	[27]
Gornier et al.	1995	Saint Etienne	20 (20 / 0)	[28]
Locati et al.	1998	Busto Arsizio	18 (18 / 0)	[29]
Eugène et al.	1998	Paris	22 (22 / 0)	[30]
Vogt et al.	1998	Zürich	34 (34 / 0)	[31]
Alonso et al.	1999	La Coruna	17 (17 / 0)	[32]
Verhelst et al.	2000	Brüssel, MZ	90 (90 / 0)	[33]
Albertini et al.	2000	Marseille, MZ	165 (120 / 45)	[34]
Lesèche et al.	2001	Clichy	28 (28 / 0)	[35]
Prager et al.	2002	Wien	13 (0 / 13)	[36]
Noel et al.	2002	USA, MZ	56 (56 / 0)	[37]
Chiesa et al.	2002	Mailand, MZ	66 (57 / 11)	[38]
Gabriel et al.	2004	Poznan	45 (45 / 0)	[39]
Kitamura et al.	2005	Tokyo	8 (8 / 0)	[40]
Castier et al.	2005	Clichy	17 (17 / 0)	[41]

Pirrelli et al.	2005	Pavia	25 (24 / 1)	[42]
Mirelli et al.	2005	Bologna	30 (7 / 23)	[43]
Matia et al.	2006	Prag	21 (0 / 21)	[44]
Zhou et al.	2006	USA, MZ	42 (42 / 0)	[45]
Vardanian et al.	2009	Los Angeles	21 (21 / 0)	[46]
Brown et al.	2009	Chicago	57 (57 / 0)	[47]
Castier et al.	2010	Paris	36 (36 / 0)	[48]
Bisdas et al.	2010	Hannover	57 (57 / 0)	[49]
Kieffer et al.	2010	Paris	179 (68 / 111)	[24]
Biró et al.	2011	Budapest	19 (19 / 0)	[50]
Pupka et al.	2011	Wroclaw	50 (0 / 50)	[51]
<b>vorliegende Arbeit</b>		<b>Leipzig/Halle</b>	<b>68 (5 / 63)</b>	

Die allogene Gefäßtransplantation wurde von den aufgeführten Autoren am häufigsten nach postoperativen Entzündungen von peripheren Kunststoffprothesen bei behandlungspflichtiger pAVK angewendet. Es sind in der Literatur aber auch andere Anwendungsmöglichkeiten für arterielle Gefäßtransplantationen mit Heilungserfolgen erwähnt wie z.B. bei Bauchaortenaneurysma (BAA), nach aorto-duodenaler Fistelung [47,49], bei der Beseitigung mykotischer Aneurysmen [39,49] oder auch als primärer Gefäßersatz bei hochgradiger pAVK und fehlendem Venenmaterial [28,32]. Generell kommen dabei entweder kryokonservierte oder frische Transplantate zum Einsatz. Aufgrund einer sich sofort einstellenden suffizienten Durchblutung der Extremitäten ist postoperativ ein sofortiger Erfolg durch Reperfusion des Gewebes ersichtlich. Für die Infektionseindämmung als eigentliches Problem bei Entzündungen des Prothesenlagers erweist sich im Langzeitergebnis das allogene Transplantat im Gegensatz zu anderen Materialien zusätzlich als infektionsresistent. Neben den üblichen Komplikationen bei gefäßchirurgischen Eingriffen wie thrombotischen Stenosen, Pseudoaneurysmabildungen und Anastomosenblutungen kommen bei allogenen Arterientransplantationen schwerere transplantatspezifische Komplikationen wie Rupturen, (Re-)Infektionen und echte Aneurysmen nur in sehr seltenen Fällen vor, was in den oben genannten modernen Studien nachgewiesen wurde.

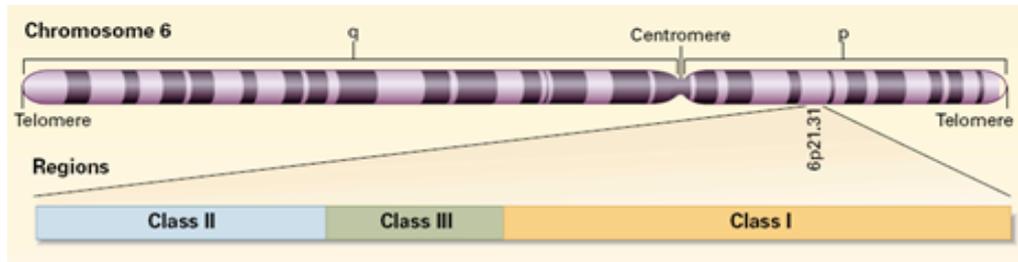
Da es sich bei den Transplantaten um biologisches Fremdgewebe handelt, stellt sich nun die Frage, ob die Allogenität die Kurz- bzw. die Langzeitergebnisse der Transplantation beeinträchtigen könnte, wie es bei Transplantationen solider Organe der Fall ist. Für diese immunologische Problematik der Transplantatabstoßung sind in erster Linie die hochgradig polymorphen HLA-Merkmale verantwortlich.

### 1.3. Immungenetische Grundlagen

#### 1.3.1. Das HLA-System

Historische an Mäusen und Ratten durchgeführte Studien legten nahe, dass eine Unverträglichkeit von bestimmten molekularen Strukturen in Transplantatempfängern eine Immunantwort des Organismus auslöst und transplantiertes Gewebe zerstört. Die Stärke dieser Reaktion hängt im Wesentlichen davon ab, inwieweit sich Spender (Donor) und Empfänger (Rezipient) in den sogenannten Gewebeverträglichkeitsmerkmalen (Transplantationsantigenen) unterscheiden. Der für diese Merkmale kodierenden Genregion wurde später der Begriff Haupthistokompatibilitätskomplex (englisch **MHC** von **M**ajor **H**istocompatibility **C**omplex) gegeben. Nicht kompatible MHC-Antigene zwischen zwei Individuen einer Spezies führen in der Regel zu einer allogenen Abstoßungsreaktion nach einer Transplantation von soliden Organen. Diese genetischen Merkmale werden bei der Spezies „Mensch“ auch als HLA-Merkmale (**H**uman **L**eukocyte **A**ntigen/**H**umanes **L**eukozyten **A**ntigen) bezeichnet, da die MHC-Moleküle initial auf Leukozyten entdeckt wurden [52]. MHC-/HLA-Moleküle stellen sich als hochgradig polymorphe, an der Zelloberfläche exprimierte Heterodimere dar. Physiologisch bzw. funktionell immunologisch spielen sie eine entscheidende Rolle bei der Präsentation von Proteinantigenen fremder Herkunft an die T-Zellen des körpereigenen Immunsystems. Damit repräsentieren sie einen essentiellen Bestandteil des sogenannten adaptiven (nicht angeborenen) Immunsystems. Eine antigenspezifische Immunantwort ist zunächst durch die sogenannte Prozessierung gekennzeichnet, bei der die als fremd erkannten Nativproteine als Antigen so verarbeitet werden, so dass die modifizierten Peptidfragmente nachfolgend auf der Bindungsstelle der HLA-Moleküle gebunden werden können (sog. Antigenpräsentation) [52,53]. Grundsätzlich existieren zwei kodierende HLA-Genregionen, jeweils eine für die HLA-Klasse I- und die -Klasse II-Merkmale, welche als eng gekoppelte autosomale Chromosomenregionen auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6 kodiert sind. Mit 224 Genloci repräsentiert der HLA-Genbereich die gendichteste Region des humanen Genoms, wobei der Abschnitt 3,6 Mb lang ist und in der Region 6p21.3 beginnt [52,54]. Jede HLA-Klasse besteht aus drei Genorten mit exprimierten Proteinen analoger Funktionalität (A, B und C jeweils für die Klasse I und DP, DQ und DR jeweils für die Klasse II). Dieses Phänomen wird als Polygenie bezeichnet. Die HLA-Merkmale werden kodominant vererbt und liegen deshalb in der Regel heterozygot exprimiert vor. Jeder Genlocus umfasst wiederum mehrere Allele, die in ihrer Vielfalt in einer Population aufzufinden sind. Diese Eigenschaft der „Variation eines Grundgens in den Individuen einer Population bzw. Spezies“ bezeichnet man als Polymorphismus (multiple Allelie). Insbesondere dieser Polymorphismus ist für die Vielfalt der HLA-

Merkmale und insbesondere für die vielfältigen Kombinationsmöglichkeiten in den Individuen einer Population verantwortlich. Die beschriebenen Vielfaltscharakteristika der HLA-Merkmale führen zu der hohen Diversität mit weltweit mehreren Milliarden von verschiedenen HLA-Genotypen [52,53,54]. In der Abbildung 1 ist das Chromosom 6 mit den enthaltenen HLA-Genregionen schematisch dargestellt [55].



**Abb.1:** Schematische Darstellung des Chromosoms 6 mit der HLA-Genregion [55]

Aufgrund der beschriebenen Polymorphismen der HLA-Merkmale wurde früh eine international gültige HLA-Nomenklatur zur Systematisierung dieser vielfältigen HLA-Allele und ihrer Genprodukte eingeführt. Bereits 1968 wurde ein Nomenklaturkomitee der WHO gegründet. Anhand der folgenden Abbildung wird die aktuelle numerische Nomenklatur eines HLA-Allels dargestellt. Die den Positionen der jeweiligen Ziffern zuzuschreibenden Bedeutungen werden in Abbildung 2 erklärt [56].

HLA-A\*02: 01: 01: 02 N

HLA-A\*: Bezeichnung des HLA-Genlokus

HLA-A\*02: Gruppe von Allelen, welche für das serologisch/phänotypisch definierte Antigen A2 kodieren

HLA-A\*02:01: spezifisches Allel, kodiertes Protein mit spezifischer Aminosäuresequenz

HLA-A\*02:01:01: Allel mit einer Exon-Mutation ohne Änderung der Aminosäuresequenz

HLA-A\*02:01:01:02: Allel mit einer Intron-Mutation

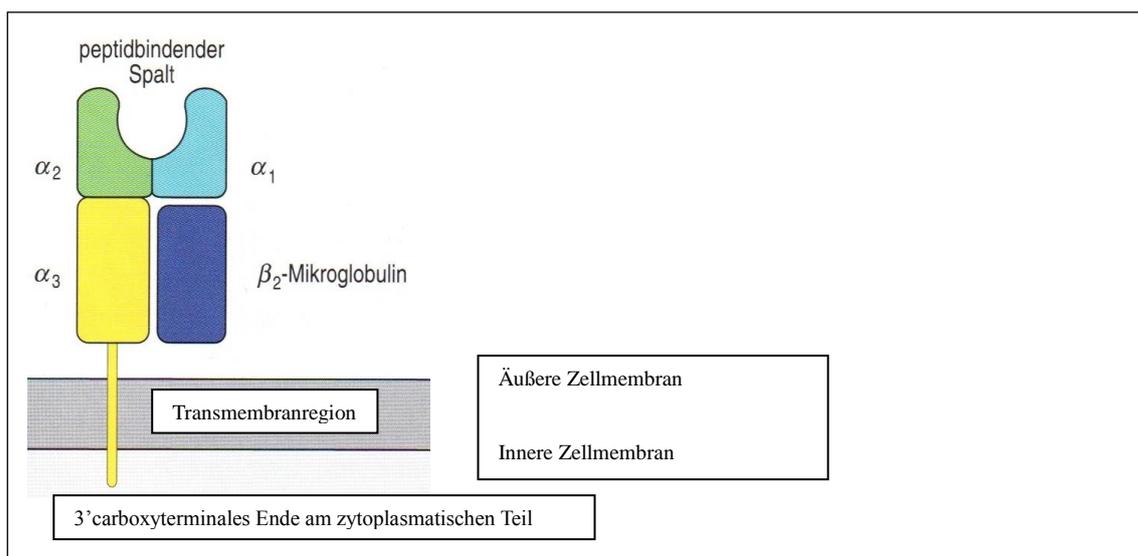
HLA-A\*02:01:01:02N: Zusatz 'N': durch im Intron liegendes Stoppcodon nicht exprimiertes Allel, kein Protein nachweisbar

**Abb. 2:** Aktuelle HLA-Nomenklatur, modifiziert nach [56]

In der Aufstellung vom Januar 2016 sind für die drei klassischen HLA-Klasse I-Gene (HLA-A, -B, -C) 10.437 Allele und für die klassischen HLA-Klasse II-Gene (HLA-DP, -DQ, -DR) 5.589 Allele eingetragen [57]. Aufgrund ihres extremen Polymorphismus kommt genau diesen HLA-Merkmalen in der Transplantationsgenetik eine zentrale Bedeutung zu. Im Empfängerorganismus werden sie bei nicht vorhandener Übereinstimmung als „fremd“ erkannt, was fast zwangsläufig eine immunologische Bekämpfung und letztendlich die Abstoßung des Spenderorgans zur Folge hat [53,54].

### 1.3.2. Aufbau und Funktion der HLA-Gene und HLA-Moleküle

Die mRNA der sogenannten HLA-Klasse I-Schwerkettengene A, B und C erstreckt sich über eine Länge von etwa 3.500 Basenpaaren (bp) und besteht jeweils aus acht kodierenden Regionen (Exons), die durch nicht-kodierende Regionen (Introns) getrennt sind. Das erste Exon kodiert die Signal- oder Leadersequenz, welche den Zellmembrandurchtritt und somit die spätere Konformation des Moleküls auf der Zelloberfläche bestimmt. Nachfolgend reihen sich die Exons für die drei extrazellulären Domänen ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  und  $\alpha_3$ ) und die Transmembranregion an. Die restlichen drei Exons kodieren den zytoplasmatischen Abschnitt sowie das 3'-nicht-translatierte carboxyterminale Ende des Moleküls. Abbildung 3 zeigt schematisch ein HLA-Klasse I-Molekül [52,53].

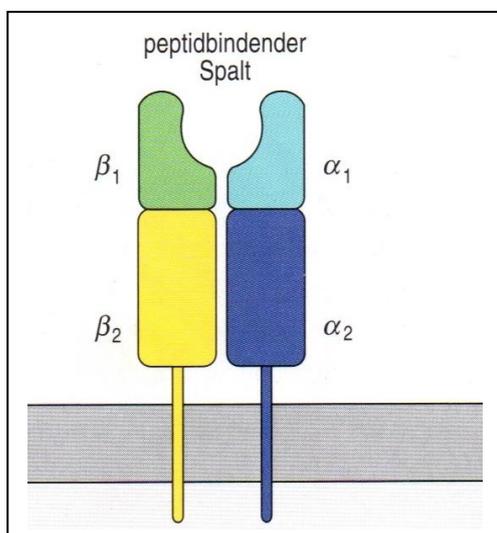


**Abb. 3:** Schematische Struktur eines HLA-Klasse I-Moleküls, modifiziert nach [52]

Komplettiert wird die HLA-Klasse I-Schwerkette durch die nicht kovalente Anlagerung des monomorphen  $\beta_2$ -Mikroglobulins (siehe Abb.3), welches außerhalb des eigentlichen MHC-Genkomplexes auf dem Chromosom 15 kodiert ist und für die komplexe dreidimensionale Faltung und die daraus resultierende Konformation als Peptid-präsentierendes Molekül der  $\alpha$ -Kette unverzichtbar ist [52,53]. Alle drei der HLA-Klasse I-Gene kodieren letztendlich Proteine mit einer schweren polymorphen  $\alpha$ -Kette (Molekulargewicht von ca. 45 kDa), die aus drei Domänen ( $\alpha_1$ - $\alpha_3$ ) besteht und mit dem bereits erwähnten  $\beta_2$ -Mikroglobulin (Molekulargewicht 11,5 kDa) eine strukturelle und funktionelle Verbindung eingeht. Durch eine Disulfidbrücke in der  $\alpha_2$ -Domäne kommt es in deren Bereich zu einer Schleifenbildung. Zusätzlich ist zwischen den polymorphen  $\alpha_1$ - und  $\alpha_2$ -Domänen ein N-gebundener Kohlenhydratanteil lokalisiert. Letztendlich lagern sich die beiden Domänen in einer  $\beta$ -Faltblatt- und einer

terminalen  $\alpha$ -helikalen Struktur aneinander und bilden eine „Grube“. In dieser Grube werden fragmentierte (prozessierte) Peptide gebunden und präsentiert (Antigenbindungsstelle). Die allelische Vielfalt der HLA-Moleküle ist in erster Linie durch die eine Population betreffende Sequenzvariabilität in den hochpolymorphen Regionen (den  $\alpha$ 1- und  $\alpha$ 2-Domänen) bedingt. Die Sequenzbereiche der  $\alpha$ 3-Domäne und des  $\beta$ 2-Mikroglobulins sind monomorph. Beide Moleküle, die membranständige  $\alpha$ -Schwerkette und das  $\beta$ 2-Mikroglobulin sind nicht-kovalent miteinander assoziiert. Ihre Assoziation stellt allerdings gemeinsam mit der Antigenbindung die Voraussetzung für die Antigenpräsentation und die „dauerhafte“ Expression des MHC-Moleküls an der Zelloberfläche dar [52,53].

Bei den HLA-Klasse II-Molekülen handelt es sich ebenso um Heterodimere. Sie bestehen aus jeweils einer  $\alpha$ -Kette mit einem Molekulargewicht von 33-35 kDa und einer  $\beta$ -Kette mit einem Molekulargewicht von 26-29 kDa. Beide Ketten weisen zwei extrazelluläre Domänen (jeweils  $\alpha$ 1- und  $\alpha$ 2-Domäne bzw.  $\beta$ 1- und  $\beta$ 2-Domäne) auf. Jede Kette besitzt sowohl eine Transmembranregion als auch einen carboxyterminalen intrazellulären Bereich (siehe Abb. 4). Die dreidimensionale Struktur ist aufgrund der  $\alpha$ -helikalen und der  $\beta$ -Faltblatt-Struktur den HLA-Klasse I-Molekülen grundsätzlich verwandt. Die Antigenbindungsstelle wird bei den HLA Klasse II-Molekülen jedoch durch beide Ketten generiert und ist zu beiden Seiten hin offen, weshalb größere und längenvariablere Peptidfragmente gebunden und präsentiert werden können. Bei den HLA-Klasse II-Molekülen verfügen die membranständigen  $\alpha$ 2- und  $\beta$ 2-Domänen jeweils über eine Disulfidbrücke. Die Gene beider HLA-Klasse II-Ketten ( $\alpha$ - und  $\beta$ -Kettengen) setzen sich aus jeweils 5 Exons und 4 Introns zusammen. Abb. 4 zeigt schematisch die Struktur eines HLA-Klasse II-Moleküls [52].



**Abb. 4:** Schematische Struktur eines HLA-Klasse II-Moleküls, modifiziert nach [52]

Nachdem Proteinantigene über einen anderen Prozessierungsweg (exogener Prozessierungsweg) als die im HLA-Klasse I Kontext präsentierten Peptide zu Fragmenten gespalten worden sind, werden sie im Anschluß als Fremdpeptide präsentiert. Während die auf den HLA-Klasse I-Molekülen präsentierten Peptide jedoch von CD8-positiven T-Lymphozyten (zytotoxischen T-Zellen) erkannt werden, werden die auf den HLA-Klasse II-Molekülen präsentierten Peptide von CD4-positiven T-Lymphozyten (T-Helferzellen) erkannt. Über den endogenen Weg werden intrazellulär synthetisierte, das heißt zytoplasmatische oder nukleäre Peptide (Selbstpeptide, virale oder tumorspezifische Peptide) zumeist auf HLA-Klasse I-Molekülen präsentiert. Durch den phagolysosomalen Proteinabbau, den sogenannten exogenen Prozessierungsweg generierte Peptide werden auf HLA-Klasse II-Molekülen präsentiert. Grundsätzlich gilt mit wenigen Ausnahmen, dass die HLA-Klasse I-Moleküle auf allen kernhaltigen Zellen exprimiert werden. Die HLA-Klasse II-Moleküle werden konstitutiv nur auf B-Lymphozyten, Monozyten und Makrophagen (mit den gewebs- bzw. organtypischen Formen wie Kupffer-Sternzellen, Langerhans-Zellen, Mikroglia oder Dendritische Zellen) exprimiert. Diese bezeichnet man deshalb auch als professionelle Antigen-präsentierende Zellen (APC). Eine Induktion dieser Moleküle kann durch immunologische Reaktionen bei autoimmunologischen Vorgängen oder bei Immunreaktionen infektiösen Ursprunges im Rahmen von entzündlichen Prozessen hervorgerufen werden. Durch die Aktivierung der Lymphozyten kommt es einerseits zu einer direkten Bekämpfung der Fremdpeptide auf zellulärer Ebene (T-lymphozytär). Andererseits können die exprimierten und aufgrund des Polymorphismus als fremd erkannten MHC-/HLA-Antigene indirekt durch präformierte oder neugebildete Antikörper erkannt und bekämpft werden (B-lymphozytär). Diese humorale Alloreaktion beginnt nach einer Transplantation mit der Aufnahme von fremden HLA-Antigenen durch die APC des Empfängers [52,53]. Diese HLA-Antigene eines Spenders werden nun als allogene Fremdpeptide den eigenen B- und T-Lymphozyten präsentiert, so dass die immunologischen Effektormechanismen induziert werden.

Aufgrund des Zusammenhanges zwischen der HLA-Kompatibilität von Spender und Empfänger und einer nachfolgenden akuten oder chronischen immunologischen Abwehrreaktion des Empfängerorganismus gegen das Transplantat bei soliden Organtransplantationen liegt die Aufgabe der HLA-Diagnostik darin, i) die Vielfalt der HLA-Merkmale bzw. HLA-Allele von Spender und Empfänger zu entschlüsseln (HLA-Typisierung) und ii) die anti-HLA-Antikörperspezifitäten eines Empfängers zu ermitteln, um auf diese Weise für eine prognostisch den Transplantaterhalt begünstigende Spender-Empfängerauswahl zu sorgen.

Das Auftreten unterschiedlich stark ausgeprägter Immunantworten (low responder/ high responder) bei teil-/identischen HLA-Kompatibilitäten verschiedener Spender-/Empfänger-Kombinationen weist auf die bereits theoretisch-immunologisch erwartete Abhängigkeit von der individuellen Beschaffenheit der HLA-Antigene des Spenders im Zusammenhang mit dem individuellen Repertoire an T-Zell-Rezeptoren und an B-Zell-Rezeptoren des Empfängers hin [52,53]. Die im Kontext der Transplantationsimmunologie als extrem negativ zu wertenden verschiedenen polymorphen Varianten der MHC-Merkmale dienen offensichtlich dem Zweck, dass eine **Population** eine möglichst große Bandbreite an Pathogenen T-Zell-vermittelt erkennen kann. Auf diese Weise wird es statistisch unwahrscheinlich, dass ein Pathogen über eine nicht mögliche Präsentation als Antigen in einer gesamten Population nicht bekämpft werden kann und somit die gesamte Population an diesem Pathogen zugrunde geht. Dem schlimmsten evolutionären Szenario, der kompletten Ausrottung einer Population wird durch die HLA-Polymorphismen vorgebeugt. Ethnisch-geographisch sind so im Laufe der Ko-Evolution mit geographisch-spezifischen Erregerspektren typische ethnisch unterscheidbare HLA-Merkmale bzw. Merkmalskombinationen entstanden. Zu nennen ist in diesem Zusammenhang zum Beispiel das Merkmal HLA-B53 in Westafrika, das den tödlichen Verlauf der Malariaerkrankung verhindert und dessen Verbreitung folglich im dortigen Areal evolutionär begünstigt wurde [58].

#### **1.4. Histopathologische Veränderungen der Gefäße im Rahmen von akuten und chronischen humoralen und zellulären Abstoßungsreaktionen**

Eine akute Abstoßungsreaktion tritt bei soliden Transplantaten innerhalb von Tagen bis zu vier Wochen nach einer Transplantation auf. Wird diese durch T-Zellen, d.h. konkret durch zytotoxische d.h. (CD8-positive) T-Killer Zellen vermittelt, handelt es sich um eine sogenannte immunologische Typ-IV-Reaktion. Unterschieden wird bei der akuten Rejektion trotz einer Manifestation im gleichen zeitlichen Rahmen die akute zelluläre von der akuten humoralen d.h. Antikörper-vermittelten Abstoßung. Auch eine Kombination dieser beiden Formen ist zu beobachten. Morphologisch fallen bei der akuten zellulären Abstoßung lymphozytäre oder granulozytäre Infiltrate mit assoziierten Zellschädigungen im Transplantat auf. Viszerale Transplantate zeigen häufig vaskuläre Endothelläsionen im Sinne einer lymphozytären Endothelitis. Die akute humorale Abstoßung präsentiert sich in Blutgefäßen in Form von nekrotisierenden Vaskulitiden. Neben Endothelnekrosen mit möglichen Thrombenbildungen sind bei der akuten humoralen Abstoßung transmurale Entzündungen mit fibrinoiden Nekrosen häufig zu beobachten [59].

Chronische Abstoßungsreaktionen treten frühestens zwei Monate nach der Transplantation auf, wobei sich langsam-progrediente Verläufe auch über Jahre hinweg erstrecken können. Dabei spielen Zell-vermittelte Abstoßungsreaktionen und humorale immunologische Vorgänge wie Antikörperablagerungen und durch Antigen/Antikörper-Komplexe vermittelte pathologische Mechanismen eine Rolle. Es wird ein „Mechanismus“ postuliert, über den alloreaktive T-Zellen im Transplantat initial eine Zytokinaktivierung verursachen, was mit einer gesteigerten Expression von Adhäsionsmolekülen im Endothel einhergeht. Ferner sezernieren alloreaktive T-Zellen Chemokine, die Monozyten anlocken, so dass deren Reifung zu Makrophagen initiiert wird. Makrophagenprodukte, vor allem Entzündungsmediatoren wie z.B. Interleukin-1 oder TNF alpha, bewirken eine weitere Makrophagenmobilisation und führen zu chronischen Entzündungsprozessen, aus denen pathologische Prozesse wie Fibrosen und Vernarbungen resultieren [60]. Ferner existieren Hinweise darauf, dass alloreaktive IgG-Antikörper eine beschleunigte Arteriosklerose in Transplantaten vermitteln [59].

## **2. Zielstellungen der Arbeit**

Nach arteriellen Rekonstruktionen können die Gefäßprothesen bei Verwendung von plastischem Prothesenmaterial aufgrund einer postoperativen Wundinfektion mit Beteiligung der implantierten Gefäßprothese versagen. In der klinischen Praxis zeigt sich häufig, dass eine Heilung dieser Gefäßprotheseninfektionen durch den Einsatz eines weiteren künstlichen Protheseninterponates an einer Reinfektion scheitert. Die Zielstellung dieser Arbeit lag darin, die alternative Einsatzfähigkeit von allogenen humanen Arterientransplantaten zur Behandlung von Patienten mit Bypassinfektionen zu evaluieren. Die Evaluationskriterien sollten zum einen klinische Parameter als Indikatoren einer Beibehaltung der Transplantatfunktion, zum anderen immunologische Parameter, die sich aus der allogenen Transplantatauswahl unter Berücksichtigung der HLA-Merkmale ergeben, umfassen.

Durch die Verwendung allogener Transplantate, die durch das natürliche Gewebe infektionsresistenter sein sollen als herkömmliche Kunststoffprothesen, sollte eine Reinfektion verhindert und ein möglichst langfristiger Erfolg mit guten Perfusionsraten ermöglicht werden. Im postoperativen Verlauf sollte deshalb von allen Patienten die Durchblutung sowohl klinisch als auch funktionsdiagnostisch beobachtet werden. Zusätzlich sollten als transplantationsimmunologische Parameter gegebenenfalls gebildete Donor-spezifische, das heißt gegen HLA-Klasse I- und II-Merkmale des Spendergewebes gerichtete Antikörper nachgewiesen werden. Zu diesem Zweck sollten initial die HLA-Antigene der allogenen Gefäßtransplantate bestimmt und mit den gegebenenfalls gebildeten und spezifizierten anti-HLA Antikörpern aus den postoperativ abgenommenen Blutseren der Transplantatempfänger verglichen werden, um eine sogenannte virtuelle Verträglichkeitsprobe vorzunehmen. Da bei Transplantationen solider Organe (z.B. Niere, Herz, Lunge) durch spezifische humorale Immunreaktionen nach der Operation an den implantierten Organen endotheliale Degenerationsvorgänge mit Okklusion von englumigen Gefäßen zu beobachten sind, sollte untersucht werden, ob bei den allogenen arteriellen Gefäßtransplantaten derartige Reaktionen ebenfalls nachzuweisen sind. Zur Untersuchung dieses Aspektes sollten mikroskopische Gewebeproben der Transplantate entnommen und auf histologisch belegbare Abstoßungsvorgänge untersucht werden.

Den bereits seit Jahren aus den Transplantationen solider Organe vorliegenden Erkenntnissen zu Folge haben derartige humorale und nachfolgende histologische Vorgänge häufig akute und chronische Organabstoßungen zur Folge. Dieses Risiko gilt es durch eine möglichst weitreichende HLA-Kompatibilität zu verringern. Bei der Auswahl der allogenen arteriellen Gefäße fanden Aspekte der HLA-Kompatibilität allerdings keine Berücksichtigung, so dass fast ausschließlich hoch immunogenes

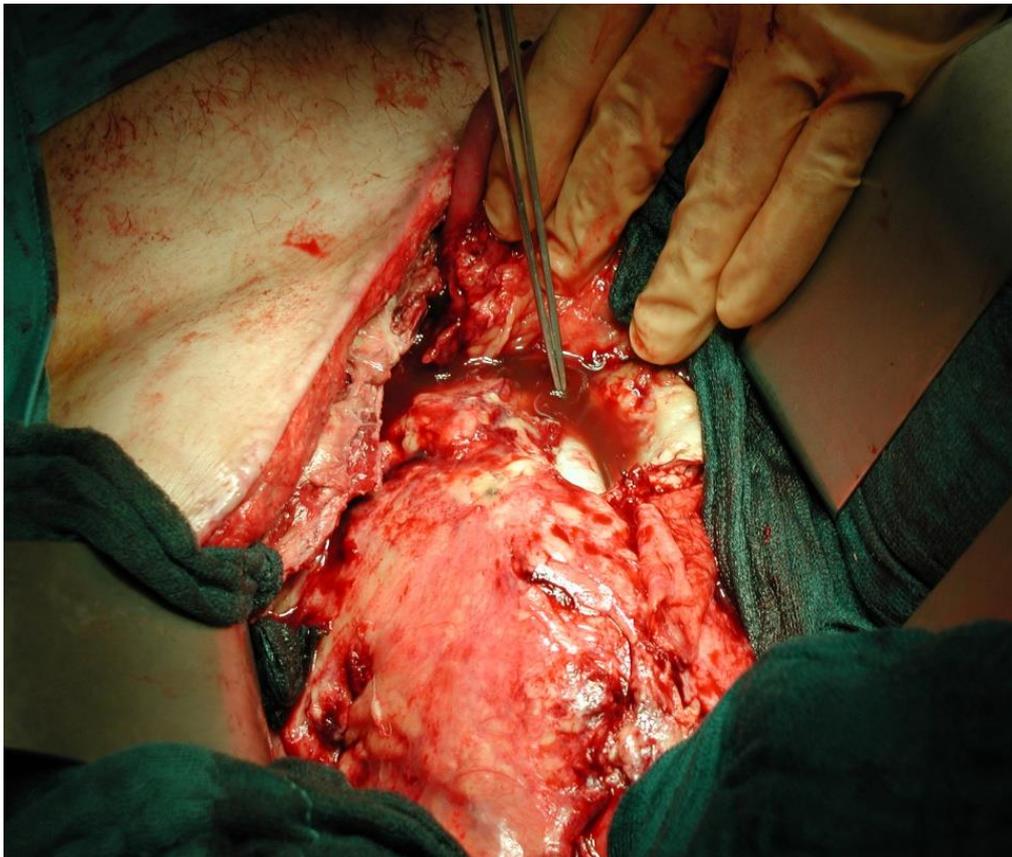
Spendermaterial verwendet wurde. In der vorliegenden Arbeit sollte deshalb zusätzlich untersucht werden, ob die nicht vorhandene HLA-Kompatibilität von Spender und Empfänger i) den nachfolgenden Immunstatus der Empfänger und ii) die Funktion des Gefäßtransplantates beeinflusst.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Patienten

##### 3.1.1. Die Kohorte dieser Studie

Im Zeitraum November 2000 bis Dezember 2009 wurden 67 Patienten konsekutiv mit insgesamt 68 allogenen Arterien hirntoter Spender transplantiert. Um über eine homogene Patientengruppe zu verfügen, wurden nur Patienten in die Studie aufgenommen, bei denen aufgrund einer Bypassinfektion die Indikation zur Transplantation gestellt worden war, so dass diese Patienten sekundär mit einem Gefäßtransplantat versorgt werden mussten. Ein Patient (ID 65) wurde mit zwei hintereinander angeschlossenen Transplantaten von zwei verschiedenen Spendern versorgt. In Abbildung fünf ist perioperativ eine Gefäßprotheseninfektion abdominell an der Aorta zwischen den Abgängen der Nierenarterien und der iliakalen Bifurkation zu sehen, die Spitze der Klemme liegt im putriden Wundsekret. Diese Prothese musste explantiert werden und durch ein allogenes arterielles Transplantat ersetzt werden. Selbst eine derart ausgeprägte Gefäßprotheseninfektion kann klinisch subakut verlaufen, weshalb es eine Herausforderung darstellt, die Infektionen früh zu erkennen und die betroffenen Patienten vor Amputation, Sepsis und Tod zu bewahren.



**Abb. 5:** Aortale Gefäßbypassinfektion *in-situ* bei einer Kunststoffprothese abdominell vor der Aufzweigung in die Iliakalarterien (Patient ID 24). Es ist reichlich periprothetisches Wundsekret zu sehen.

Von den 67 einbezogenen Patienten waren 56 Männer (83,6%) und 11 Frauen (16,4%) mit einem mittleren Alter von 66 Jahren (38-82 Jahre). 56 Patienten befanden sich zum Zeitpunkt der Transplantation in einem ASA-Status 3, acht in einem ASA-Status 2 und drei in einem ASA-Status 4 (körperlicher Gesundheitsstatus entsprechend der Klassifikation in sechs Stadien nach den Kriterien der „American Society of Anaesthesiologists“, ansteigend mit einer Verschlechterung der körperlichen Verfassung; Tabelle 6). Die Patienten wurden aus dem gesamten Bundesgebiet zur Gefäßtransplantation in die Klinik für Viszeral-, Transplantations-, Thorax- und Gefäßchirurgie des Universitätsklinikums Leipzig (UKL) als überregionales Zentrum für die Behandlung von Gefäßprotheseninfektionen verlegt. Die Blutgruppen (A, B, O-System) und HLA-Merkmale fanden präoperativ bei der Spender-Empfängerzuordnung keine Berücksichtigung.

### **3.1.2. Risikofaktoren und Begleiterkrankungen der Patienten**

63 Patienten (94,0%) waren zum Zeitpunkt der Transplantation an pAVK (periphere arterielle Verschlusskrankheit) erkrankt, davon 34 an pAVK Stadium IIb (54,0%), 15 an pAVK Stadium III (23,8%) und 14 an pAVK im Stadium IV (22,2%). Unter den Risikofaktoren traten Hypertonie mit 85,1% (n=57) und Rauchen mit 85,1% (n=57) am häufigsten auf. Für alle aktiven Raucher (n=28) und ehemaligen Raucher (n=29; mehr als 100 Zigaretten im Leben und mehr als 6 Monate seit der letzten Zigarette) wurde eine durchschnittliche Zahl von 24p/y (5-50) dokumentiert. Ein pack/year (p/y) steht für eine gerauchte Schachtel Zigaretten pro Tag über den Zeitraum von einem Jahr. An der koronaren Herzkrankheit waren 40 Patienten erkrankt (59,7%). Zwölf Patienten (17,9%) hatten schon einen akuten Myokardinfarkt (AMI) erlitten. 25 Patienten (37,3%) waren an Diabetes mellitus erkrankt; 52,2% der Patienten (n=35) waren übergewichtig (BMI > 25). Darüber hinaus waren 31 Patienten an Hyperlipidämie (46,3%) und 10 Patienten an Hyperurikämie (14,9%) erkrankt. 56 Patienten (83,6%) hatten die ursprüngliche Rekonstruktion aufgrund von peripheren Verschlüssen bei einem fortgeschrittenen Stadium der pAVK erhalten. Elf Patienten (16,4%) wurden aufgrund eines infizierten Bauchaortenaneurysmas (BAA) transplantiert, welche initial sowohl durch Rohrprothesen (n=4) als auch Y-Prothesen (n=7) behandelt wurden. Die präoperativen Anamnesedaten mit den Begleiterkrankungen sind in Tabelle 6 aufgeführt.

**Tabelle 6: Patientendaten, Begleiterkrankungen, Keimspektrum und Transplantatlokalisierung**

ASA: Körperlicher Status entsprechend der Klassifizierung der „American Society of Anaesthesiologists“; BMI: Body Mass Index; aHT: arterielle Hypertonie; HLP: Hyperlipidämie; pAVK: Stadium der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit; BAA: Zustand nach Bauchaortenaneurysma; p/y: ein pack/year bedeutet ein Jahr mit einer Schachtel Zigaretten pro Tag; DM: Diabetes mellitus; IDDM: Insulin-abhängiger DM Typ I/II; NIDDM II: nicht-Insulin-abhängiger DM Typ II; KHK: koronare Herzkrankheit; AMI: Zustand nach akutem Myokardinfarkt; MIBI: Mikrobiologisches Keimspektrum der Infektion; SA : *Staph. aureus*; SE: *Staph. epidermidis*; SH : *Staph. Haemolyticus*; MRSA : Methicillin-resistenter *Staph. aureus*; EC : *E. coli*; EF : *Enterococcus faecalis*; PA : *Pseudomonas aeruginosa*; PM : *Proteus mirabilis*; PB : *Prevotella buccae*; CA : *Candida albicans*; B : *Bacteroides*; S : *Streptococcus*; ST : *Salmonella typhimurium*; E : *Enterobacter*, Y : *Yersinia*; KP : *Klebsiella pneumoniae*

ID	Sex	Alter	ASA	BMI	aHT	HLP	Rauchen[py]	DM	BAA	pAVK	KHK	AMI	MIBI	Lokalisation
1	M	63	3	23	ja	nein	20	nein	nein	IIb	ja	nein	keine	aorto-bifemoral
2	M	70	3	24	ja	ja	25	nein	nein	IV	ja	nein	MRSA	axillo-popliteal
3	M	80	3	22	ja	nein	15	nein	nein	IIb	ja	nein	SA	axillo-femoral
4	M	59	3	27	ja	ja	40	nein	ja	IIb	nein	nein	S, B, PB	aorto-biiliacal
5	M	61	3	30	ja	ja	40	IDDM II	nein	IV	ja	ja	SA	aorto-femoral
6	W	72	3	26	ja	nein	20	nein	nein	III	ja	nein	SA	aorto-femoral
7	M	67	3	22	ja	nein	30	nein	nein	III	nein	nein	keine	femoro-popliteal
8	M	54	3	34	nein	nein	5	IDDM II	nein	IV	ja	ja	SA	femoro-popliteal
9	M	63	3	23	ja	nein	20	NIDDM II	nein	IIb	ja	nein	keine	aorto-popliteal
10	M	57	3	27	ja	ja	30	nein	nein	IIb	ja	ja	SE	iliaco-femoral
11	M	53	3	26	nein	ja	20	NIDDM II	nein	IV	nein	nein	keine	aorto-popliteal
12	M	73	3	24	ja	nein	30	nein	ja	IIb	ja	nein	SF, SH	aorto-biiliacal
13	M	61	3	30	ja	ja	10	IDDM II	nein	IIb	ja	nein	SE	aorto-bifemoral
14	W	61	3	34	nein	ja	20	IDDM II	nein	IIb	nein	nein	keine	femoro-popliteal
15	W	74	3	19	ja	nein	nein	NIDDM II	nein	IV	ja	nein	keine	femoro-popliteal
16	M	66	2	24	ja	nein	nein	nein	nein	IIb	nein	nein	SE	femoro-popliteal

**Fortsetzung Tabelle 6: Patientendaten, Begleiterkrankungen, Keimspektrum und Transplantatlokalisierung**

ID	Sex	Alter	ASA	BMI	aHT	HLP	Rauchen[py]	DM	BAA	pAVK	KHK	AMI	MIBI	Lokalisation
17	M	67	2	30	ja	nein	nein	nein	nein	IIb	nein	nein	SA	aorto-biiliacal
18	M	71	4	24	ja	ja	15	NIDDM II	ja	IIb	ja	nein	SE	aorto-aortal
19	M	77	4	29	ja	nein	10	IDDM II	nein	III	ja	nein	SA	femoro-popliteal
20	W	59	3	28	ja	nein	20	IDDM II	nein	IV	ja	nein	S	femoro-popliteal
21	M	51	3	23	ja	nein	15	nein	nein	III	ja	nein	SA	aorto-bifemoral
22	W	75	2	20	ja	nein	5	NIDDM II	ja	-	ja	nein	ST, Y	aorto-aortal
23	M	77	3	23	nein	ja	20	IDDM II	nein	IIb	ja	nein	SA	femoro-popliteal
24	M	64	3	24	ja	nein	20	nein	nein	-	nein	nein	EF, PA, EC	aorto-biiliacal
25	M	77	3	24	ja	nein	nein	IDDM II	nein	IV	ja	nein	SA, EF	femoro-popliteal
26	M	73	3	23	ja	nein	30	NIDDM II	nein	III	nein	nein	SA	aorto-bifemoral
27	M	66	4	27	ja	ja	30	nein	nein	III	ja	ja	SE, SH	aorto-bifemoral
28	M	72	3	23	ja	nein	20	nein	nein	IIb	ja	nein	EC	aorto-bifemoral
29	W	82	3	20	ja	ja	nein	NIDDM II	nein	III	ja	ja	E, CA	iliaco-femoral
30	W	63	3	24	ja	nein	25	nein	nein	IIb	nein	nein	keine	iliaco-iliacal
31	M	63	3	23	ja	ja	25	nein	nein	IIb	nein	nein	keine	iliaco-popliteal
32	M	71	3	30	ja	nein	20	nein	ja	IIb	ja	ja	EF	aorto-bifemoral
33	M	52	2	23	nein	nein	30	nein	nein	IIb	nein	nein	SE	aorto-biiliacal
34	M	64	3	21	ja	ja	20	nein	ja	IV	nein	nein	keine	aorto-biiliacal
35	M	60	3	26	ja	ja	30	nein	nein	IIb	ja	nein	SA	aorto-femoral
36	W	77	3	28	ja	ja	nein	nein	nein	III	nein	nein	SA, EF, KP, S, CA, B	iliaco-femoral
37	M	67	3	27	ja	ja	25	nein	nein	IIb	nein	nein	SA	aorto-bifemoral
38	M	67	3	23	ja	ja	50	nein	nein	IIb	nein	nein	SA	iliaco-crural
39	W	53	2	34	ja	ja	30	IDDM II	nein	IV	nein	nein	MRSA, EF, EC, SA	aorto-bifemoral
40	M	52	3	26	ja	ja	20	nein	nein	IIb	ja	ja	SA	aorto-femoral
41	M	38	3	21	ja	nein	40	IDDM I	nein	IIb	nein	nein	keine	aorto-femoral
42	M	73	3	26	ja	ja	35	nein	nein	IIb	ja	nein	SA, EC	aorto-bifemoral

Fortsetzung Tabelle 6: Patientendaten, Begleiterkrankungen, Keimspektrum und Transplantatlokalisation

ID	Sex	Alter	ASA	BMI	aHT	HLP	Rauchen							MIBI	Lokalisation
							[py]	DM	BAA	pAVK	KHK	AMI			
43	M	45	3	26	nein	nein	5	nein	nein	IV	ja	ja	MRSA	aorto-bifemoral	
44	M	80	3	24	ja	ja	20	IDDM II	nein	III	ja	nein	MRSA	aorto-bifemoral	
45	M	58	2	27	ja	ja	35	IDDM II	nein	III	ja	nein	EF	aorto-femoral	
46	M	63	3	36	ja	ja	30	IDDM II	nein	IIb	nein	nein	PM	aorto-bifemoral	
47	M	69	3	30	ja	ja	nein	nein	nein	III	nein	nein	keine	aorto-bifemoral	
48	M	66	3	21	nein	nein	30	nein	nein	IV	nein	nein	SE	aorto-femoral	
49	M	69	3	26	ja	ja	20	IDDM II	nein	IV	ja	ja	E	iliaco-crural	
50	M	70	3	34	ja	ja	25	NIDDM II	nein	IIb	ja	nein	SA	aorto-bifemoral	
51	M	68	3	23	ja	nein	nein	nein	ja	IIb	nein	nein	MRSA	aorto-bifemoral	
52	M	81	3	26	ja	ja	10	nein	ja	-	ja	ja	MRSA, EF	aorto-bifemoral	
53	M	65	3	26	ja	nein	5	nein	nein	III	ja	nein	SE	popliteo-pedal	
54	W	69	3	24	ja	nein	40	nein	nein	IIb	nein	nein	EF	aorto-bifemoral	
55	M	66	3	27	ja	ja	5	NIDDM II	ja	-	nein	nein	EF	aorto-biiliacal	
56	M	63	3	20	nein	nein	25	nein	ja	IIb	ja	nein	EF, PB	aorto-aortal	
57	M	74	3	21	ja	nein	40	NIDDM II	ja	III	ja	nein	MRSA	aorto-aortal	
58	M	74	3	21	ja	nein	20	nein	nein	IV	ja	nein	MRSA	fem.-fem. Crossover	
59	M	68	2	26	nein	ja	10	nein	nein	IIb	nein	nein	SA	iliaco-femoral	
60	M	62	3	26	nein	nein	40	nein	nein	IIb	nein	nein	keine	aorto-bifemoral	
61	M	72	3	22	ja	nein	40	nein	nein	IIb	ja	ja	SE, EF	aorto-bifemoral	
62	M	76	3	26	ja	nein	30	NIDDM II	nein	III	nein	nein	SA	aorto-bifemoral	
63	M	67	3	26	ja	ja	15	nein	nein	IV	ja	ja	SA	iliaco-femoral	
64	W	70	3	27	ja	ja	20	nein	nein	IIb	ja	nein	PM	aorto-bifemoral	
65	M	76	3	26	ja	nein	nein	nein	nein	III	ja	nein	EF	aorto-bifemoral	
66	M	70	3	21	ja	nein	30	nein	nein	IIb	ja	nein	keine	femoro-popliteal	
67	M	51	2	28	ja	nein	nein	nein	nein	IIb	nein	nein	keine	aorto-bifemoral	

### 3.1.3. Die präoperative klinische Untersuchung

Bei der Patientenaufnahme und während des prä- und postoperativen stationären Verlaufs wurde routinemäßig ein Entzündungsscreening durchgeführt. Dies umfasste die Anamnese mit Inspektion, die körperliche Untersuchung mit Temperaturmessung und die Bestimmung der Laborparameter Leukozyten, C-reaktives Protein (CRP), und Procalcitonin. Zusätzlich wurden funktionsdiagnostische radiologische Untersuchungen durchgeführt, um Informationen über das Ausmaß der Gefäßbypassinfektion zu erhalten. Dazu gehörten bei jedem Patienten eine Farbduplexsonographie und bei Bedarf zusätzlich Computertomographie (CT), Magnetresonanztomographie (MRT) und CT-Angiographie, die gegebenenfalls unter Verwendung von Kontrastmittel (KM) durchgeführt wurde. Bei einigen Patienten wurde auch die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) eingesetzt, um den Fokus der Entzündung zu finden. Abbildung 6 zeigt den Schnitt einer KM-CT Untersuchung bei einem Patienten mit einer infizierten Gefäßprothese im Bereich des Beckens und einer sichtbaren Entzündungsreaktion des angrenzenden Gewebes. Dieses KM-CT zeigt die dringende Notwendigkeit einer operativen Sanierung des Infektionsherdes.



**Abb. 6:** KM-CT mit den Zeichen einer Infektion im Leistenbereich am rechten Schenkel einer aorto-femorale Gefäßprothese (Patient ID 6)

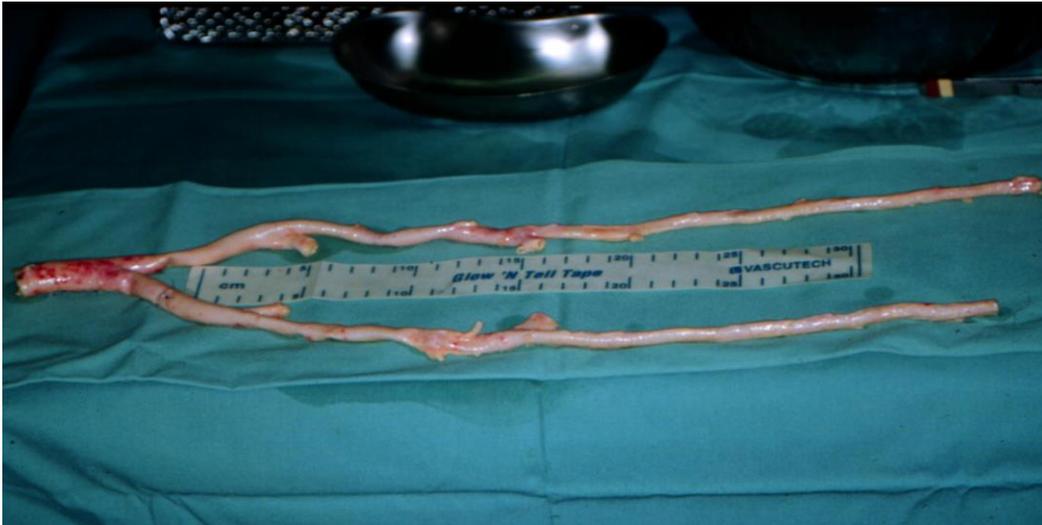
### 3.1.4. Herkunft und Vorbereitung der allogenen Gefäßtransplantate

Nach positiver Evaluation zur Durchführung einer allogenen Gefäßtransplantation erfolgte bis 2007 eine Patientenmeldung bei der Deutschen Stiftung für Organtransplantation (DSO) und seit 2008 bei der Deutschen Gesellschaft für Gewebetransplantation (DGFG). Die Spendergefäße wurden an das Klinikum vermittelt und innerhalb eines Zeitraumes von 48 bis 72 Stunden transplantiert. Vor der

Implantation wurde der Ausgangszustand der Transplantate routinemäßig makroskopisch und mikroskopisch auf Qualität und Schäden wie z.B. Arteriosklerose, mykotische Veränderung, Mediasklerose und Gewebsschädigung durch Kryobehandlung oder Lagerung in Perfusionslösung geprüft. Es wurden auch der Aufbau und die Schichtdicken der Gefäßwandabschnitte (*Tunica intima*, *media* und *adventitia*) gemessen, um möglichst exakte Hinweise auf gewebliche Veränderungen nach der Implantation zu erhalten.

### **3.2. Charakterisierung der allogenen arteriellen Gefäßtransplantate**

Bei den anatomischen Rekonstruktionen wurde der zentrale Einstrom in 65,7% der Fälle aortal (n=44), bei 14,9% femoral (n=10), bei 13,4% iliaca (n=9) und bei 1,5% popliteal (n=1) angeschlossen. Insgesamt wurden drei nicht-anatomische Bypässe (4,5%) angelegt (davon zwei axilläre Anschlüsse und ein femoro-femorales Crossover-Bypass). Bei den verwendeten Transplantaten (n=68) handelte es sich um 63 frische (92,6%) und fünf kryokonservierte Gefäße (7,4%). Die Lokalisationen der Transplantate werden in Tabelle 6 dargestellt. Die histologischen Untersuchungen der Arterientransplantate vor der Implantation konnten bei den meisten Transplantaten einen überwiegend regelrechten histologischen Aufbau mit normaler Schichtdicke von *Tunica adventitia*, *media* und *interna* (oder *intima*) nachweisen. In der *Tunica adventitia* zeigten sich elastische Fasern mit Anschnitten kleiner blutgefüllter Gefäße. Die *Tunica intima* zeigte sich in einigen Fällen leicht hypertrophiert, es wurden ferner Transplantate mit schon vorbestehender leichter bis mäßiger Lipofibrose und Kalzifikationen beschrieben. Als Ausnahme zu den unbedenklichen genannten Befunden wurde ein Transplantat mit hochgradiger Mediasklerose implantiert (ID38). Somit waren an den transplantierten Gefäßen zum Teil bereits geringfügig Zeichen von Arteriosklerose sichtbar. Eine ausreichende Qualität und Funktionsfähigkeit der Gefäß-Allotransplantate war bis auf obengenannten Fall jedoch gegeben, um eine ausreichende Durchblutung für das zu versorgende Gewebe zu gewährleisten. Die sogenannte „Frischtransplantation“ wurde bei 63 Transplantaten durchgeführt. Die alternative Transplantation von kryokonservierten Transplantaten wurde in fünf Fällen durchgeführt. Eine Kryokonservierung erfolgt methodisch als kontrollierter Einfriervorgang des Gefäßes auf Temperaturen zwischen -120°C und -196°C. Dieser Vorgang wird in Dimethyl-Sulfoxid (DMSO) durchgeführt, um eine Kristallisierung der Wassermoleküle und eine dadurch bedingte Zelldehydratation während des Gefrierprozesses mit flüssigem Stickstoff zu verhindern. Abbildung 7 zeigt ein frisches aorto-bifemorales Transplantat (Y-Bypass) als Ersatz für die infizierte Plastikprothese vor der Implantation.



**Abb. 7:** Frisches Gefäßtransplantat (Y-Bypass) vor der Implantation (Patient ID 28)  
Frischtransplantate wurden hirntoten menschlichen Spendern entnommen und bis zur Implantation bei 4°C in speziellen Perfusionslösungen gelagert

### 3.3. Anfertigung perioperativer mikrobiologischer Abstriche

Von allen Patienten wurden perioperativ routinemäßig Abstriche aus der offenen Wunde und vom perivasalen Wundsekret entnommen. Das Keimspektrum dieser Proben wurde am Institut für Mikrobiologie des UKL analysiert. So konnten Mikroorganismen identifiziert werden, welche die Gefäßbypassinfektionen verursachten. In der Regel hatten die Patienten bereits vor der stationären Aufnahme eine mehrtägige antibiotische Behandlung mit einem Breitspektrumantibiotikum erhalten. Nach Erstellung des Resistogramms wurde dann in Abhängigkeit des nachgewiesenen bakteriellen Erregers die Behandlung mit dem wirksamen primären Antibiotikum fortgeführt oder die Therapie auf ein erregerspezifisches Antibiotikum umgestellt. Die antibiotische Therapie wurde postoperativ in der Regel noch vier bis sechs Wochen weitergeführt, in Einzelfällen war eine Therapiedauer von bis zu drei Monaten notwendig. Eine Langzeitantibiose über diesen Zeitraum hinaus wurde bei keinem Patienten angewendet.

Bei den Abstrichuntersuchungen für die Analyse des Keimspektrums (siehe Tabelle 3) wurden bei 40 Patienten (59,7%) jeweils einzelne Keime nachgewiesen. 13 Patienten (19,4%) zeigten eine Mischinfektion, während bei 14 Patienten (20,9%) keine Keime aus der Wunde isoliert werden konnten. Bei dem am häufigsten identifizierten Erreger handelte es sich um *Staphylococcus aureus* (31,3%), wobei außerdem MRSA (Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*) bei 11,9% der Patienten nachgewiesen wurde. Als zweithäufigster Keim wurde *Enterococcus faecalis* (19,4%) identifiziert, gefolgt von Koagulase-negativen Staphylokokken (16,4%). Außerdem wurden *Escheria*

*coli* (6,0%) und Streptokokken (4,5%) isoliert. Des Weiteren wurde je zweimal *Proteus mirabilis*, *Prevotella buccae*, *Bacteroides* und *Enterobacter* und je einmal Yersinien, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium* und *Pseudomonas aeruginosa* nachgewiesen.

### **3.4. Status der explantierten entzündeten Gefäßbypässe**

Die bei der Operation routinemäßig exzidierten entzündeten Bypässe wurden im Institut für Pathologie des UKL auf bakterielle Besiedlungen, Entzündungszellen (neutrophile Granulozyten, Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen), Abszedierungen, Nekrosen und Degenerationszeichen untersucht, um auch histologisch den Beweis für die klinisch auffällige Bypassinfektion zu erbringen. Den exzidierten Bypässen lagen 64 alloplastische Gefäßprothesen und drei autologe Venenbypässe zu Grunde. Die Explantation der infizierten Bypässe erfolgte im Durchschnitt 44 Monate nach der primären Rekonstruktion. Bei der histologischen Untersuchung des alloplastischen Prothesenmaterials lag bei 60 Patienten eindeutig eine tiefe Gefäßprotheseninfektion mit Anastomosenbeteiligung (Grad 3 nach Szylagi bzw. Stadium II oder III nach Zühlke und Harnoff; siehe Tabelle 2 und 3) vor. Bei vier Gefäßprothesen konnten keine eindeutigen mikroskopischen Entzündungszeichen (Durchsetzung mit neutrophilen Granulozyten, Gewebsnekrosen, Mikroabszesse) nachgewiesen werden. Alle entfernten Venenbypässe zeigten makroskopische und mikroskopische Zeichen einer Infektion. Ein Beispiel für eine makroskopisch eindeutig als entzündet zu charakterisierende Gefäßprothese mit eitrigen und nekrotischen Veränderungen ist in Abb. 8 dargestellt.



**Abb. 8:** Explantierte und infizierte aorto-femorale Gefäßprothese (Patient ID 41)

### 3.5. Postoperativer Verlauf nach der Transplantation

Die postoperative Verlaufskontrolle nach Erhalt des humanen Allotransplantates erfolgte nach der Entlassung der Patienten routinemäßig im Zuge der ambulanten Sprechstunde für Gefäßtransplantierte. Dort fanden regelmäßig klinische und Farbduplex-sonographische Untersuchungen statt. Im Bedarfsfall wurden diese durch CT-, MRT- und PET-Untersuchungen ergänzt. Im Falle einer Ausheilung der Infektion wurde zum Transplantaterhalt drei bis vier Wochen nach Transplantation eine niedrig dosierte immunsuppressive Therapie eingeleitet. Als Medikament wurde Sirolimus (Rapamune®) oder Tacrolimus (Prograf®) verwendet. Der angestrebte Serumspiegel der Immunsuppressiva lag jeweils bei 5 ng/ml. Zur Kontrolle erfolgten entsprechende routinemäßige Laborabnahmen von Blutseren. In etwa einjährigen Abständen wurden Blutseren der Gefäßtransplantat-Empfänger im HLA-Labor des Universitätsklinikums Halle (UKH) auf eine anti-HLA Antikörperbildung untersucht, um gegebenenfalls eine vorhandene humorale Immunantwort im Empfängerorganismus nachzuweisen. Bei Transplantatthrombosen oder Pseudoaneurysmen wurden im Rahmen der notwendigen Revisionsoperationen ebenso wie nach Amputationen routinemäßig Biopsien dieser Transplantate (n=16) gesichert, um therapiepflichtige pathologische Veränderungen wie Entzündungen oder Abstoßungsreaktionen histologisch zu überprüfen. Diese Untersuchungen wurden vom Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Leipzig durchgeführt. Die Nachbeobachtungszeit dieser Studie endete am 28.02.2010.

### 3.6. Geräte und Reagenzien

#### 3.6.1. Verwendete Komplettsysteme / KITS

B-SCREEN® (anti-HLA Klasse II Antikörper Screening-ELISA)	GTI®Diagnostics, Inc., Waukesha, WI, USA
DynaChip® HLA Antibody Analysis/ Screening Plus (anti-HLA Klasse I und II Antikörper Spezifizierungsassay)	Invitrogen™/LifeTechnologies™, Bromborough, UK
LIFECODES® Class I ID (anti-HLA Klasse I Antikörper Spezifizierungsassay)	Immucor Transplant Diagnostics, Inc., Stamford, CT, USA
LIFECODES® Class II IDv2 (anti-HLA Klasse II Antikörper Spezifizierungsassay)	Immucor Transplant Diagnostics, Inc., Stamford, CT, USA
QUIKSCREEN® (anti-HLA Klasse I Antikörper Screening-ELISA)	GTI®Diagnostics, Inc., Waukesha, WI, USA

### 3.6.2. Verwendete Geräte

Dynachip®HLA Antibody Analysis Software and Processor	Invitrogen™, Bromborough, UK
ELISA-Reader MRX II	Dynex Technologies, Chantilly, VA, USA
Fluoreszenzmikroskop	Olympus bzw. Zeiss
Hamilton Einkanal-Spritze (1µl)	ESSLAB, Essex, UK
Hamilton 6-Kanal-Kamm (2µl und 5µl)	ESSLAB
Luminex100™IS	Qiagen GmbH, Hilden, BRD
Multikanalpipette	Brand GmbH und Co, Wertheim, BRD
Pipetten 10-100 µl, 100-1000µl	Eppendorf GmbH
Vakuumpumpe	VWR International GmbH, Darmstadt, BRD
Rotationsplattform	Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, BRD
Zentrifuge 5810 R	Eppendorf GmbH, Hamburg, BRD

### 3.6.3. Verwendete Reagenzien

B-SCREEN® Anti-Human IgG Konjugat (Sekundärantikörper)	GTI®Diagnostics, Inc.
B-SCREEN® Negativ- und Postivkontrollserum	GTI®Diagnostics, Inc.
B-SCREEN® PNPP-Substrat	GTI®Diagnostics, Inc.
B-SCREEN® Stopplösung	GTI®Diagnostics, Inc.
B-SCREEN® Substratpuffer	GTI®Diagnostics, Inc.
B-SCREEN® Tris(hydroximethyl)-aminomethan [Tris]	GTI®Diagnostics, Inc.
B-SCREEN® Verdünnungslösung	GTI®Diagnostics, Inc.
DynaChip® Detektionsantikörper	Invitrogen™
DynaChip® Negativ- und Postivkontrollserum	Invitrogen™
DynaChip® Verdünnungslösung	Invitrogen™
DynaChip® Waschpuffer	Invitrogen™
LIFECODES® Class I ID Anti-Human IgG Konjugat	Immucor Transplant Diagnostics, Inc.
LIFECODES® Class I ID Class I-HLA Beads	Immucor Transplant Diagnostics, Inc.
LIFECODES® Class I Negativ- und Postivkontrollserum	Immucor Transplant Diagnostics, Inc.

LIFECODES® Class I ID Verdünnungslösung	Immucor Transplant Diagnostics, Inc.
LIFECODES® Class I ID Waschpuffer	Immucor Transplant Diagnostics, Inc.
LIFECODES® Class II IDv2 Anti-Human IgG Konjugat	Immucor Transplant Diagnostics, Inc.
LIFECODES® Class II IDv2 Class II-HLA Beads	Immucor Transplant Diagnostics, Inc.
LIFECODES® Class II IDv2 Negativ- und Postivkontrollserum	Immucor Transplant Diagnostics, Inc.
LIFECODES® Class II IDv2 Verdünnungslösung	Immucor Transplant Diagnostics, Inc.
LIFECODES® Class II IDv2 Waschpuffer	Immucor Transplant Diagnostics, Inc.
LiquiChip™ Calibration Bead Kit	Qiagen GmbH, Hilden, BRD
QUIKSCREEN® Anti-Human IgG Konjugat	GTI®Diagnostics, Inc.
QUIKSCREEN® Negativ- und Postivkontrollserum	GTI®Diagnostics, Inc.
QUIKSCREEN® PNPP-Substrat	GTI®Diagnostics, Inc.
QUIKSCREEN® Stopplösung	GTI®Diagnostics, Inc.
QUIKSCREEN® Substratpuffer	GTI®Diagnostics, Inc.
QUIKSCREEN® Tris(hydroxymethyl)- aminomethan [Tris]	GTI®Diagnostics, Inc.
QUIKSCREEN® Verdünnungslösung	GTI®Diagnostics, Inc.

### 3.7. Methoden

Alle Testsysteme wurden den Instruktionen der Hersteller entsprechend benutzt.

#### 3.7.1. QUIKSCREEN® (anti-HLA Klasse I) und B-SCREEN® (anti-HLA Klasse II) ELISA zum Nachweis von anti-HLA-Antikörpern

##### *Funktionsprinzip*

Unter Verwendung beider Screening-ELISA Systeme (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) werden zytotoxische und nicht-zytotoxische anti-HLA Antikörper gegen HLA-Klasse I- (QUIKSCREEN®) oder HLA-Klasse II- (B-SCREEN®) Antigene nachgewiesen. Dabei binden die im Patientenserum vorliegenden anti-HLA Antikörper an vorher in den Vertiefungen immobilisierte HLA-Klasse I- oder II-Antigene. Die so gebundenen primären Antikörper aus dem Patientenserum werden durch sogenannte Sekundärantikörper (anti-human IgG Antikörper) gebunden, welche mit alkalischer Phosphatase konjugiert sind.

Durch Zugabe des Substrates PNPP (Paranitrophenylphosphat) kommt es im Falle gebundener Primär- und Enzym-konjugierter Sekundärantikörper zu einer Farbreaktion, die photometrisch vermessen wird.

Im QUIKSCREEN®-ELISA liegen als Festphasen-immobilisierte Antigene aufgereinigte HLA Klasse I-Moleküle vor, die aus Thrombozyten von Blutspendern isoliert wurden; im B-SCREEN®-ELISA sind aufgereinigte HLA Klasse II-Antigene als Isolate aus EBV-transformierten B-lymphozytären Zelllinien immobilisiert. In diesem Test können bei Verwendung des entsprechenden Sekundärantikörpers (anti-IgG/-M/-A) sowohl anti-HLA Antikörper der Isotypen IgG als auch IgM- und IgA-Isotypen nachgewiesen werden. Eine Bestimmung der Spezifitäten der anti-HLA Antikörper (Antikörperdifferenzierung) ist in beiden Screening-Testsystemen nicht möglich. Diese Testsysteme führen nur zu einer qualitativen Aussage („ja/nein–Antwort“), da in einer Kavität das gesamte Spektrum der HLA-Klasse I- bzw. Klasse II-Antigene in immobilisierter Form vorliegt.

Folglich muss für die gegebenenfalls gewünschte Identifizierung der Antikörperspezifitäten ein weiterer Assay (Spezifizierungsassay) durchgeführt werden.

#### *Durchführung*

Alle Reaktionen erfolgen im Doppelansatz. Entsprechend der Anzahl der zu untersuchenden Patientenproben plus Negativ- und Positivkontrolle werden die ELISA-Strips in einem entsprechenden Halterahmen fixiert. Nach einem initialen Waschvorgang der verwendeten Kavitäten (Wells) werden die Proben entsprechend den Herstellervorgaben mit einer Verdünnungslösung gemischt und nachfolgend für 30 Minuten in den entsprechenden Kavitäten bei 37°C inkubiert. In dieser Zeit erfolgt die Bindung von anti-HLA Antikörpern aus den Patientenseren auf den immobilisierten HLA Antigenen. Nach drei Waschschritten mit jeweils 300µL Waschlösung erfolgt eine halbstündige Inkubation mit 50µL anti-human IgG/-M/-A Sekundärantikörper, der mit alkalischer Phosphatase konjugiert ist. Die Proben werden durch Aspiration vorsichtig entfernt, bevor wieder drei Waschvorgänge mit 300µL Waschlösung durchgeführt werden. Das PNPP-Substrat wird im Verhältnis 1:100 mit Substratpuffer verdünnt, bevor die Zugabe in die verwendeten Vertiefungen erfolgt. Die Verwendung von PNPP sollte lichtgeschützt und bei einer konstanten Raumtemperatur (22-25°C) erfolgen. Nach erneuter 10-minütiger Inkubation wird die Reaktion in jeder Kavität durch Zugabe von 100µL Stopplösung beendet.

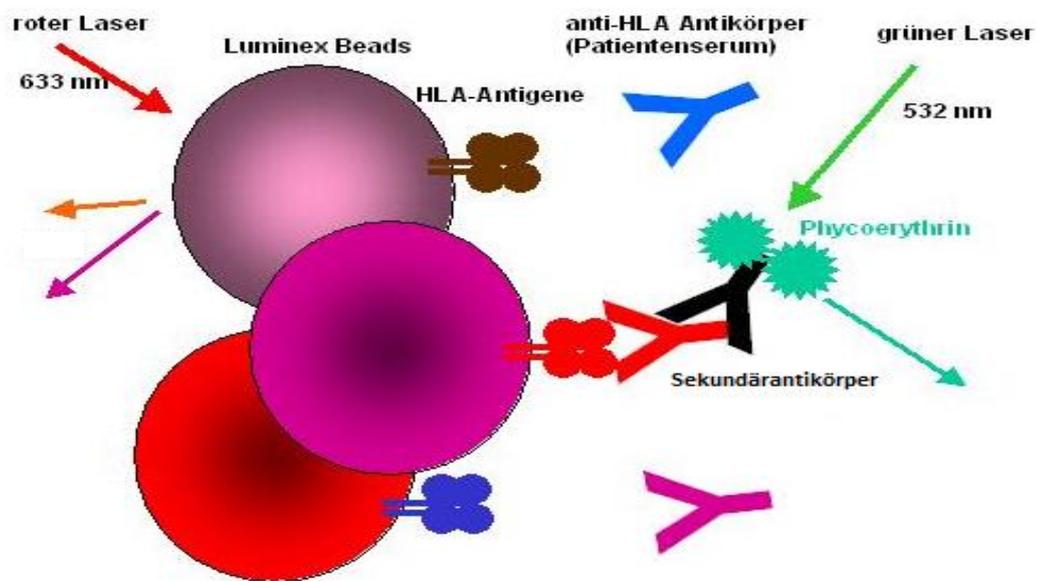
### *Analyse*

Im Fall einer Bindung von anti-HLA Antikörpern aus den Patienten- bzw. Probenseren kommt es zu einer Farbreaktion, die im ELISA-Reader gemessen wird. Die Reaktion wird als positiv gewertet, wenn die Extinktionswerte mindestens zweimal so stark wie die Werte der Negativkontrollen ausfallen. Diese Screeningsysteme geben eine initiale Auskunft über das generelle Vorhandensein von anti-HLA Antikörpern. Im Falle einer positiven Reaktion erfolgt die weitere Differenzierung/ Spezifizierung mittels Dynachip- oder Luminex-basierender anti-HLA Antikörper Spezifizierungassays. Die Ergebnisse der prä- und postoperativen ELISA-Screenings sind in Tabelle 9 dargestellt.

### **3.7.2. Luminex™-Technologie zur Identifizierung und Spezifizierung einer Antikörper-vermittelten anti-HLA Immunantwort**

#### *Funktionsprinzip*

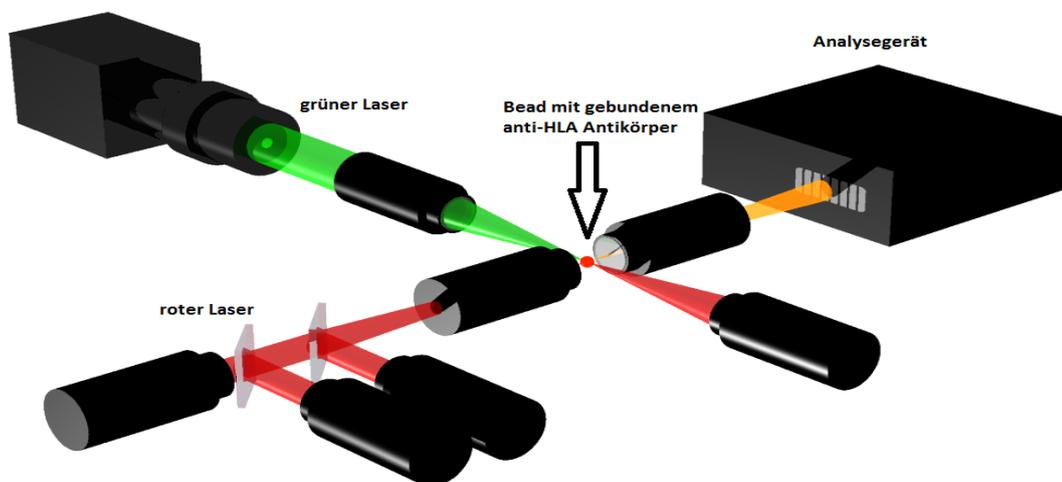
Die Technologie des Luminex Spezifizierungsassays beruht auf dem Prinzip der Fluoreszenzmessung von Zellen oder Mikropartikeln nach ihrer direkten Kopplung an Fluoreszenzfarbstoffe oder ihrer Markierung mit Antikörpern, an die Fluoreszenzfarbstoffe gekoppelt wurden. Als Trägermaterial für die Analyte dienen im vorliegenden Fall mikroskopisch kleine Polystyrolpartikel, sogenannte Mikrosphären oder „Microbeads“ (Abb.9 und 11). Diese sind mit zwei unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert, die Licht im roten und infraroten Wellenlängenbereich emittieren. Die Kombination dieser beiden Farbstoffe in jeweils zehn verschiedenen Farbcodierungen führt zu 100 spektral unterscheidbaren Varianten zwischen Rot und Infrarot (Abb. 10). Jede der 100 „Beadgruppen“ kann somit individuell erkannt und zur Quantifizierung/Analyse eines definierten Analytes genutzt werden, indem sie von zwei Lasern einzeln beleuchtet wird. Ein roter Laserstrahl regt die Farbstoffmischung in den Beads an (633nm) und dient der Klassifizierung der Mikrosphären, während ein grüner Laserstrahl (532nm) den an die Oberfläche der Beads gebundenen Fluoreszenzfarbstoff anregt und dem quantitativen Nachweis der gebundenen Detektionsmoleküle dient. Auf der Oberfläche eines Mikroträgerpartikels wird individuell Nachweismaterial gebunden, welches im Falle der Gefäßtransplantation ein Protein (Antigen oder Antikörper) ist [Abb. 9].



**Abb.9:** Schema des Luminex™ -Assay für die anti-HLA Antikörperdetektion

Somit kann das technische Prinzip der Luminex-Analyse unter Verwendung von auf den Beads immobilisierten HLA Antigenen für den Nachweis von transplantat-spezifischen anti-HLA Antikörpern (Luminex-basierender anti-HLA Spezifizierungs-assay) benutzt werden.

Mit dem primären Lasersystem (rot) wird nun jede einzelne Trägerkugel dem auf ihr fixierten Analyt zugeordnet. Mit dem zweiten Lasersystem (grün) erfolgt der Nachweis einer Antikörperbindung auf einem Bead (Abb. 9 und 10). So kann eine Computer-gesteuerte Analyse möglicher Antikörperbindungen durchgeführt werden und ein Nachweis von Gefäßtransplantat-spezifischen anti-HLA Antikörpern erfolgen (Abb. 11).



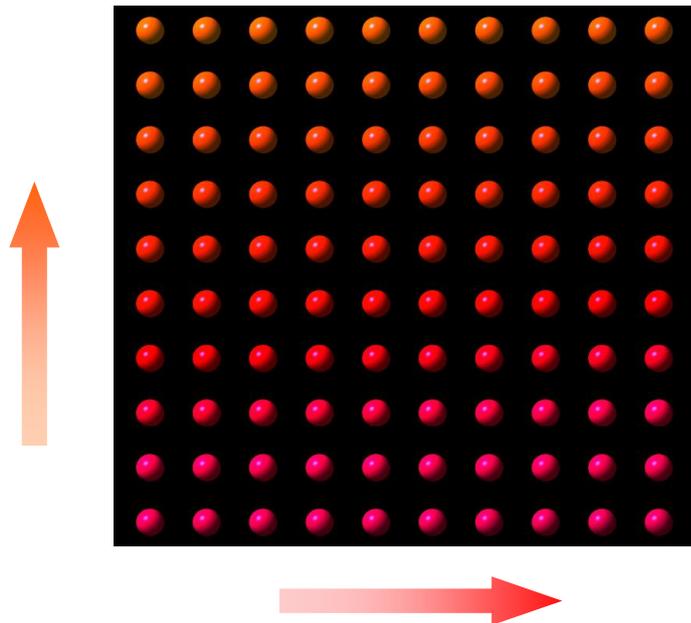
**Abb. 10:** Luminex™ -Zwei-Laser-System zur Spezifizierung der anti-HLA Antikörper

### *Durchführung*

Das verwendete Versuchskit für die Detektion von anti-HLA Klasse I (LIFECODES® Class I ID) und Klasse II-Antikörpern (LIFECODES® Class II IDv2) mit der Luminex-Technologie bedient sich einer Mikrotiterplatte mit 96 Vertiefungen. Zunächst erfolgt zur initialen Befeuchtung der Kavitäten eine Waschung mit jeweils 100µl destilliertem Wasser, welches nach drei Minuten mit der Vakuumpumpe wieder entfernt wird. Die LIFECODES HLA-Beads werden vor der Verwendung für 30 Sekunden bei 600xg zentrifugiert und anschließend für eine Minute mittels Vortexapparatur resuspendiert. Nach Zugabe von 40µl Waschpuffer in die Kavitäten werden die Patientenseren oder Kontrollseren diesen Kavitäten zugefügt und gemischt. Im Anschluss werden in jede Vertiefung 5µl der HLA-Beads (Klasse I oder II) pipettiert und inkubiert. Die Mikrotiterplatte wird für eine halbe Stunde zur Inkubation der Seren auf die Rotationsplattform (200 Rotationen/min.) gestellt. Im Anschluß wird jeweils 5µl Anti-Human IgG Konjugat hinzugegeben, welches vorher mit je 45µl Waschpuffer verdünnt wurde. Nach 30-minütiger Inkubationszeit werden die Testseren mit 100µl Waschpuffer verdünnt und durch langsame Aspiration wieder entfernt. Es folgen drei Waschvorgänge mit jeweils 250µl Waschpuffer. Bei den Waschungen werden die Proben kurz resuspendiert (Vortexapparatur) und für fünf Minuten bei 1300xg zentrifugiert, bevor der Waschpuffer durch Ausklopfen oder Absaugen mittels Vakuumpumpe entfernt wird. Im nächsten Schritt werden erneut 50µl verdünntes Konzentrat (Anti-Human IgG Konjugat 1:10 mit Waschpuffer verdünnt) in jede Kavität gegeben und nachfolgend die Mikrotiterplatte für 5 Minuten bei 200 Rotationen/min. bewegt. Es folgt erneut eine Inkubationszeit von 30 Minuten, bevor die Testseren im Luminex-Gerät analysiert werden können. Zur weiteren Verdünnung der Bead-Suspension werden nochmals 150µl Waschpuffer mit der Pipette in jede Vertiefung pipettiert. Während der Inkubationszeiten sollten die Proben aufgrund der Ausbleichgefahr der verwendeten Fluoreszenzfarbstoffe (sogenanntes Fading) lichtgeschützt gelagert werden.

### *Analyse*

Die Messungen wurden vollautomatisch mit der Software des Luminex100™ IS (One Lambda, INC.) ausgewertet. Die Analyse der Antikörperspezifitäten der gefäßtransplantierten Patienten erfolgte entsprechend den Anleitungen des Herstellers. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse für die Serumanalysen ist in Tabelle 8 dargestellt.



**Abb. 11:** Set von max. 100 Beads mit individueller Farbkodierung zur Detektion der Mikrosphären im roten bis infraroten Wellenlängenbereich.

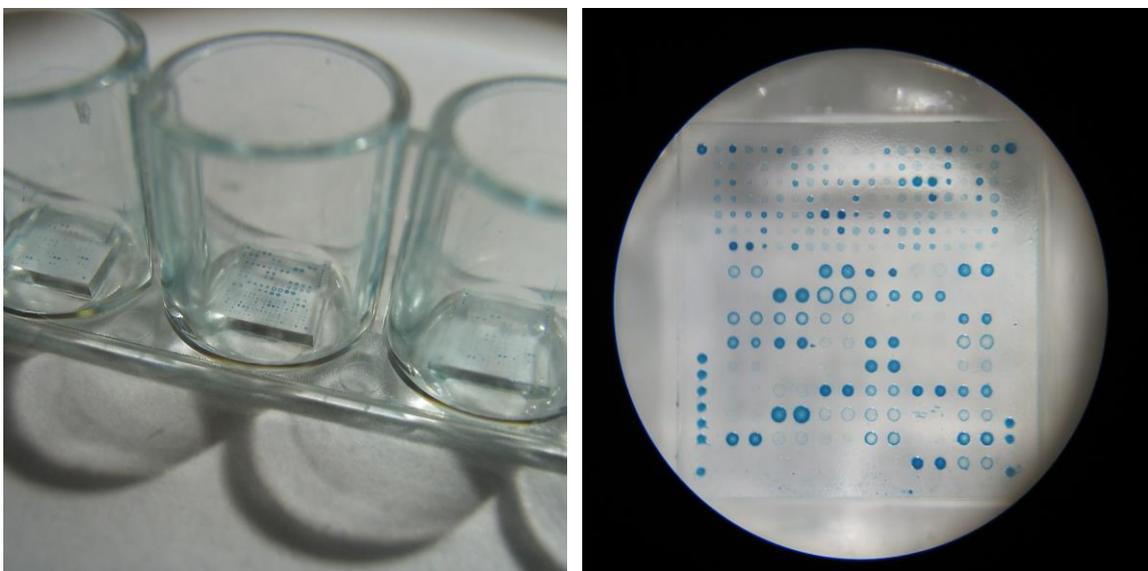
### **3.7.3. Dynachip™ Analyse zur anti-HLA Antikörper Spezifizierung und Festlegung des anti-HLA Antikörper Reaktionspanels (Panel-Reactive-Antibodies/PRA%)**

#### *Funktionsprinzip*

Der auf dem Funktionsprinzip eines ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) basierende Microchip Assay wird analog zur Luminex-Technologie für die Detektion und Spezifizierung von anti-HLA Klasse I- und II-Antikörpern verwendet. Auf einem Miniatur-Glasobjektträger (Chip) sind Festphasen-gebundene HLA Antigene als sogenannte „Spots“ fixiert (Abb. 9). Pro Objektträger sind 96 Spots mit HLA Klasse I-Antigenen und 42 Spots mit HLA Klasse II- Antigenen jeweils einer einzelnen Person belegt. Damit enthält ein HLA Klasse I Antigen spot die HLA-A, -B und -C Antigene einer Person, ein HLA Klasse II-Antigen spot enthält die HLA-DR und -DQ Antigene einer Person. Kombinatorisch ist es bei einem nicht zu hohen Immunisierungsgrad (PRA-Wert in %) möglich, die Antikörper-Einzelspezifitäten der Seren der untersuchten Patienten zu identifizieren. Als sogenannte externe Kontrollen werden auf jeden Objektträger humane Kontrollseren mit definierten anti-HLA Antikörpern (1. Kontrolle: anti-HLA A2 + anti-HLA B17, 2. Kontrolle: anti-HLA A9) als Positivkontrollen mitgeführt. Zusätzliche sogenannte „interne Kontrollen“ sind für die Assayvalidierung notwendig. Dazu gehören i) der „Biotin-Marker“-Spot zur Validierung der Substratreaktion, ii) der „anti-Human-IgG“-Spot zur Validierung einer tatsächlich erfolgten Serumzugabe, iii) der „Human-IgG“-Spot zur Validierung der Funktionalität des Detektionskomplexes (siehe unten) und iv) der „ $\beta$ 2-Mikroglobulin“-Spot zum Nachweis unspezifischer Reaktionen (hervorgerufen z.B. durch Immunkomplexe).

### *Durchführung*

Die Seren wurden zuerst durch eine relativ hochtourige Zentrifugation (10,000xg für 10 min) von Aggregaten und Lipidkomplexen befreit, bevor sie mit Verdünnungslösung (Sample Diluent) verdünnt wurden. Zuerst wurden die Proben den Herstellerangaben entsprechend in einer 1:12 Verdünnung getestet. Bei erwarteten sehr hohen anti-HLA Antikörpertitern wird eine stärkere Verdünnung empfohlen. Die 8er-Mikrotiterstreifen mit den darin fixierten Chips (Abb. 9) werden in einem 96er Halterahmen zusammengefügt und dann in der DynaChip®-Apparatur platziert. Zusätzlich werden Verdünnungspuffer, eine gebrauchsfertige Sekundärantikörperlösung und die Substratlösung in die dafür vorgesehenen Gefäße des Gerätes gefüllt. Die durch das System festgelegte vollautomatische Abarbeitung der Serumproben besteht aus folgenden Schritten: i) Inkubation der Chips mit den verdünnten primären Serumproben, wodurch die gegebenenfalls vorhandenen anti-HLA Antikörper an die HLA-Antigene binden. ii) Zugabe eines Meerrettichperoxidase-konjugierten Sekundärantikörperkomplexes zum Nachweis gebundener primärer anti-HLA Antikörper. Dieser wurde zuvor in einer eigenen Modifikation des Verfahrens mit Peroxidase-konjugiertem Streptavidin inkubiert, um den Detektionskomplex herzustellen. iii) Zugabe von Tetramethylbenzidin (TMB) als durch das Enzym Peroxidase umgesetztes Substrat in einer Lösung. Im Falle einer Bindung von anti-HLA Antikörpern erfolgt somit eine sich niederschlagende (präzipitierende) Blaufärbung auf den entsprechenden HLA Antigenspots. Den letzten Schritt stellt die photometrische Analyse der einzelnen Antigenspots dar. Ein Probendurchlauf benötigt etwa vier Stunden.



**Abb. 9:** Im Napf einer Mikrotiterplatte positioniertes DynaChip-Trägergläschen (links) und Aufnahme eines vergrößerten Chips unter Darstellung der Einzelspots (rechts)

### *Analyse*

Die Computersoftware liefert eine automatische Auswertung, die allerdings überprüft und gegebenenfalls manuell korrigiert werden kann. Durch verschiedene Reaktionsintensitäten und die resultierenden Farbgraduierungen können die Antikörperspezifitäten ausgelesen und bestimmt werden. Eine Differenzierung Gefäßtransplantat-spezifischer Antikörperbildungen bei den Empfängern wurde so ermöglicht (Tabelle 8). Das Programm berechnet sowohl für die anti-HLA Klasse I- als auch die anti-HLA Klasse II-Antikörper die Panelreaktivitäten. Bei diesen handelt es sich jeweils um Prozentangaben **Panel-Reaktiver Antikörper** unter Berücksichtigung der Frequenz der einzelnen Antigene in der europäischen Population. Beim Nachweis von anti-HLA Antikörpern wird mit der Festlegung des PRA-Wertes folglich die prozentuale Wahrscheinlichkeit angegeben, mit der in Abhängigkeit von der Häufigkeit der entsprechenden HLA Antigene ein Kreuztest (Nachweis von Spender-spezifischen anti-HLA Antikörpern) ein „positives“ Resultat aufweist. Mit dem positiven Ergebnis eines prospektiven Kreuztestes liegt bei der Vorbereitung der Transplantation eines soliden Organes eine klare Kontraindikation für diesen Eingriff vor.

## **4. Ergebnisse**

### **4.1. Der klinische Verlauf nach den Gefäßtransplantationen**

#### **4.1.1. Heilungsrate und Therapieversagen der allogenen Gefäßtransplantationen**

Bei 56 Patienten (84%) konnte eine suffiziente Durchblutung und Heilung des infizierten Prothesenlagers erreicht werden. Bei 11 Patienten (16%) führte die Behandlung nicht zu einem Erfolg über die gesamte Nachbeobachtungsphase. Neun Patienten (13,4%) mussten sich im Rahmen der Grunderkrankung in der Nachbeobachtungsphase einer Amputation des Beines mit der ehemals infizierten Gefäßprothese unterziehen (Tabelle 7). Zwei Patienten hatten in der Nachbeobachtungszeit Transplantatverschlüsse (ID16 nach 96,9 Monaten und ID38 nach 3,4 Monaten, siehe Tabelle 7), weshalb die Transplantate entfernt und durch neue Gefäßbypässe ersetzt werden mussten. Es wurden sechs Oberschenkelamputationen und vier Unterschenkelamputationen durchgeführt. Fünf Amputationen mussten aufgrund von arteriosklerotischen oder thrombembolischen Transplantatverschlüssen durchgeführt werden (ID 2, 5, 8, 38, 43). Fünf Beinamputationen mussten wegen fortgeschrittenen Weichteilinfektionen vorgenommen werden, da trotz Implantation der initial keimfreien allogenen Arterientransplantate und mehrfacher Revisionen unter Verabreichung einer Langzeitantibiose keine Heilung zu erreichen war (ID 7, 19, 25, 34 und 58). Eine persistierende Infektion ohne Heilung nach Implantation der Prothese wurde versucht durch den Ausbau des Transplantates und Anlage eines neuen Gefäßbypasses zu kurieren (ID 53). Somit ergab sich eine Reinfektion/persistierende Infektion bei insgesamt 6/67 Patienten (9% der Patienten). Bei zwei Amputationen aufgrund von persistierenden Weichteilinfektionen am distalen Ende des Transplantates endete die Nachbeobachtungszeit der implantierten Gefäße nicht nach der Amputation, da diese aufgrund ihrer Lokalisation nicht reseziert wurden und auch nach der Transplantation funktionsfähig waren (ID 34 und 58). Eine Amputation im Ausstromgebiet des Transplantates musste aufgrund des thrombotischen Verschlusses einer schon vorher implantierten Plastikprothese distal des Arterientransplantates durchgeführt werden (ID 51).

#### **4.1.2. Auftreten operationsspezifischer Komplikationen, die nach den Gefäßtransplantationen zu beobachten waren**

Eine intraarterielle Thrombosierung der verpflanzten Transplantate wurde bei zwölf Patienten (17,9%) beobachtet, womit sie die häufigste Komplikation darstellte. Dabei waren einmalige Bypassverschlüsse bis zu maximal fünf Rezidivthrombosen in den Gefäßen zu beobachten und zu behandeln (Tabelle 7). Insgesamt mussten bei allen Patienten während der gesamten Nachbeobachtungsphase 25 Thrombektomien

**Tabelle 7: Klinische Verläufe, Komplikationen und pathologische Befunde der allogenen Gefäßtransplantate**

TX-Datum: Transplantationsdatum; Follow Up (Monate): Nachbeobachtungszeitraum in Monaten; Verschluss: Thrombotischer Verschluss des allogenen Gefäßtransplantates, Infektion: unheilbare Infektion des Gefäßprothesenlagers; Komplikationen: im Nachbeobachtungszeitraum auftretende Komplikationen des Transplantates; T: Anzahl notwendiger Thrombektomien aufgrund arterieller Thrombosen im Transplantat; PA: resektionspflichtiges Pseudoaneurysma; A: Transplantataneurysma; B: revisionspflichtige Nachblutung aufgrund einer Anastomoseninsuffizienz; Infektion TX: Reinfektion mit Beteiligung des Transplantates

ID	TX-Datum	Follow-Up (Monate)	Grund Ende Follow-Up	Tod	Infektion TX	Komplikationen	Amputation
1	23.11.2000	91,9	Tod	10.06.2008	nein	T (n=1)	nein
2	28.11.2000	36,9	Tod	11.12.2003	nein	T (n=1), PA	26.11.2003
3	03.04.2001	13,3	Tod	08.05.2002	nein	nein	nein
4	13.06.2001	106,1	Studienende	-	nein	nein	nein
5	25.02.2002	33,7	Verschluss	-	nein	T (n=4), B	04.06.2002
6	26.03.2002	35,9	Tod	08.03.2005	nein	nein	nein
7	05.09.2002	3,4	Infektion	-	ja	nein	17.12.2002
8	05.09.2002	17,6	Verschluss	22.03.2004	nein	T (n=3)	14.02.2004
9	27.01.2003	86,3	Studienende	-	nein	T (n=2)	nein
10	03.03.2003	40,2	Tod	22.06.2006	nein	nein	nein
11	06.03.2003	85,0	Studienende	-	nein	T (n=1)	nein
12	28.04.2003	81,8	Tod	16.01.2010	nein	nein	nein
13	08.05.2003	44,4	Tod	31.12.2006	nein	nein	nein
14	19.05.2003	37,3	Tod	12.06.2006	nein	nein	nein
15	30.05.2003	2,0	Tod	30.07.2003	nein	nein	nein
16	25.07.2003	69,9	Verschluss	-	nein	T (n=1), A	nein

**Fortsetzung Tabelle 7: Klinische Verläufe, Komplikationen und pathologische Befunde der allogenen Gefäßtransplantate**

ID	TX-Datum	Follow-Up Monate	Grund Ende Follow-Up	Tod	Infektion TX	Komplikationen	Amputation
17	22.08.2003	0,8	Tod	16.09.2003	nein	nein	nein
18	25.09.2003	78,3	Studienende	-	nein	nein	nein
19	22.10.2003	0,2	Infektion	02.11.2003	ja	nein	28.10.2003
20	15.12.2003	12,9	Tod	06.01.2005	nein	nein	nein
21	01.03.2004	73,0	Studienende	-	nein	B	nein
22	21.04.2004	1,8	Tod	14.06.2004	nein	nein	nein
23	30.07.2004	1,0	Tod	30.08.2004	nein	nein	nein
24	13.08.2004	3,9	Tod	07.12.2004	nein	PA,B	nein
25	26.08.2004	1,6	Infektion	07.12.2004	nein	PA	14.10.2004
26	30.09.2004	4,4	Tod	10.02.2005	nein	nein	nein
27	22.11.2004	0,6	Tod	10.12.2004	nein	nein	nein
28	23.11.2004	64,1	Studienende	-	nein	nein	nein
29	31.01.2005	40,5	Tod	31.5.2008	nein	B	nein
30	01.02.2005	61,8	Studienende	-	nein	nein	nein
31	18.03.2005	60,3	Studienende	-	nein	nein	nein
32	11.04.2005	29,8	Tod	21.9.2007	nein	nein	nein
33	06.06.2005	57,6	Studienende	-	nein	nein	nein
34	17.06.2005	13,2	Tod	17.07.2006	nein	nein	21.07.2005
35	11.10.2005	25,0	Tod	01.11.2007	nein	nein	nein
36	22.11.2005	51,5	Tod	15.02.2010	nein	nein	nein
37	16.03.2006	48,2	Studienende	-	nein	nein	nein
38	30.04.2006	3,4	Verschuß	-	nein	T (n=3)	nein
39	11.10.2006	41,2	Studienende	-	nein	B	nein
40	11.01.2007	38,1	Studienende	-	nein	nein	nein
41	12.03.2007	36,1	Studienende	-	nein	nein	nein
42	05.04.2007	0,2	Tod	12.04.2007	nein	nein	nein

**Fortsetzung Tabelle 7: Klinische Verläufe, Komplikationen und pathologische Befunde der allogenen Gefäßtransplantate**

ID	TX-Datum	Follow-Up Monate	Grund Ende Follow-Up	Tod	Infektion TX	Komplikationen	Amputation
43	26.04.2007	15,4	Verschluß	20.10.2008	nein	T (n=5)	16.01.2008 nein
44	06.07.2007	32,3	Studienende	-	nein	nein	nein
45	26.09.2007	29,5	Studienende	-	nein	nein	nein
46	15.10.2007	28,9	Studienende	-	nein	nein	nein
47	28.11.2007	27,4	Studienende	-	nein	nein	nein
48	09.01.2008	26,0	Studienende	-	nein	nein	nein
49	09.04.2008	23,0	Studienende	-	nein	nein	nein
50	10.04.2008	23,0	Studienende	-	nein	nein	nein
51	25.04.2008	22,5	Studienende	-	nein	nein	02.07.2008
52	19.05.2008	0,4	Tod	31.05.2008	nein	nein	nein
53	03.07.2008	3,2	Infektion	-	ja	T (n=2)	nein
54	16.10.2008	0,8	Tod	10.11.2008	nein	nein	nein
55	14.08.2008	18,8	Studienende	-	nein	nein	nein
56	13.08.2008	1,4	Tod	25.09.2008	nein	nein	nein
57	09.10.2008	1,4	Tod	21.11.2008	nein	nein	nein
58	07.10.2008	17,0	Studienende	-	nein	nein	19.10.2008
59	10.10.2008	16,9	Studienende	-	nein	nein	nein
60	09.12.2008	14,9	Studienende	-	nein	nein	nein
61	23.02.2009	12,3	Studienende	-	nein	nein	nein
62	31.03.2009	11,1	Studienende	-	nein	T (n=1)	nein
63	04.05.2009	10,0	Studienende	-	nein	nein	nein
64	25.06.2009	8,3	Studienende	-	nein	T (n=1),B	nein
65	09.07.2009	7,8	Studienende	-	nein	nein	nein
66	09.09.2009	4,2	Tod	13.01.2010	nein	PA	nein
67	11.12.2009	2,6	Studienende	-	nein	nein	nein

durchgeführt werden. Bei vier Patienten endeten die erfolglosen Versuche der Rekanalisation in einer Amputation (Tabelle 7), die anderen thrombotisierten Transplantate konnten durch interventionelle oder operative Therapie wieder eröffnet werden. Drei Patienten (ID 7, 19, 53) erlitten im postoperativen Verlauf eine Infektion des implantierten arteriellen Transplantates, was bei zwei Patienten zur Amputation führte (ID 7 und 19) [Tab. 7]. Ein Transplantat bildete 5,6 Jahre nach der Implantation multiple Transplantataneurysmen und musste entfernt werden (ID 16, Tab. 7). Außerdem kam es postoperativ zu vier Pseudoaneurysmabildungen (5,9%). In sechs Fällen fand postoperativ eine Revision zur Blutstillung aufgrund von Anastomosenblutungen statt. Drei Patienten entwickelten im weiteren Verlauf eine Lymphozele, von denen zwei punktiert und eine reseziert wurden. Die Notwendigkeit von Wundrevisionen war bei zehn Patienten gegeben. Eine Übersicht über alle Komplikationen im postoperativen Verlauf ist in Tabelle 7 dargestellt.

#### **4.1.3. Analyse der Mortalität der Patienten**

Von der ersten Transplantation am 23.11.2000 bis zum Ende der Nachbeobachtungsphase am 28.02.2010 verstarben insgesamt 31 Patienten (46,3%). Die 30-Tage-Letalität lag bei 9,0% (sechs Patienten), die Spätletalität (>30 Tage postoperativ) bei 37,3%. Kein Patient verstarb während der Operation, und bei keinem Patienten verursachte eine Komplikation, bedingt durch die Operation oder das Transplantat den Tod. Insgesamt 14 Patienten verstarben durch ein kardiales Geschehen, davon elf Patienten an einer chronischen Herzinsuffizienz und drei an einem akuten Myokardinfarkt. Weitere fünf Studienteilnehmer erlitten ein Multiorganversagen, wovon zwei septisch waren (ID 17 und 19). Diese Patienten sind die einzigen Teilnehmer der gesamten Kohorte, die vermutlich im Rahmen der Gefäßbypassoperation an einem septischen Geschehen verstorben sind. Das Transplantat ID 19 wurde zwar von der Entzündung des perivaskulären Entzündungsgeschehens erfasst, das Gefäß war jedoch zum Zeitpunkt des Todes intakt. Patient ID 17 verstarb an einer Kolitis mit akutem Nierenversagen im Rahmen der Gefäßbypassoperation, eine histologische Probe des Transplantates konnte hier nicht entnommen werden. Insgesamt vier Patienten verstarben in der Folge eines metastasierten Karzinoms (Lunge n=3, Pankreas n=1). Bei drei Patienten dieser Studie blieb der Grund des Todes unklar. Insgesamt zwei Patienten verstarben an einem hämorrhagischen Schock bei akuter Blutung. Eine Blutung trat peranal auf und war durch multiple erosive Angiodysplasien bedingt, ein Patient starb an einem rupturierten inoperablen Aneurysma der Bauchschlagader ohne Beteiligung des zuvor eingebauten Transplantates. Weitere zwei Todesfälle der Studienteilnehmer waren durch ein akutes Nierenversagen und ein

weiterer Todesfall durch eine Lungenarterienembolie bedingt. Im Durchschnitt konnten die Patienten 28 Monate postoperativ beobachtet werden, die längste Nachbeobachtungsphase umfasste mehr als acht Jahre (ID 4, Tabelle 7). Transplantatassoziierte Todesfälle traten nicht auf.

## **4.2. Die postoperative humorale und zelluläre Immunantwort**

### **4.2.1. Entwicklung einer humoralen anti-HLA Antikörperreaktion der gefäßtransplantierten Patienten**

Von insgesamt 43 Patienten und (aufgrund der für einen Patienten vorgenommenen Verwendung von zwei Alлотransplantaten unterschiedlicher Spender) für insgesamt 44 allogene Gefäßtransplantate konnten die serologisch-immunologischen Empfängerdaten vollständig erhoben werden. Eine Zusammenfassung dieser Daten findet sich in Tabelle 8 und 9. Bei 40 Patienten (93,0%) waren vor der Transplantation, nachgewiesen durch Verwendung der entsprechenden HLA-Screening ELISA Testsysteme, keine anti-HLA Antikörper der Klassen I und II nachweisbar (PRA=0%). Drei Patienten (7%) wiesen bereits präoperativ anti-HLA Klasse I- und/oder II-Antikörper auf. Der durchschnittliche prozentuale PRA-Wert lag bei den bereits präoperativ immunisierten Patienten bei 48%, wobei sich virtuell, d.h. aus dem Vergleich auf Übereinstimmung der Antikörperspezifitäten der Empfänger mit den HLA-Merkmalen der Spender keine präformierten Donor-spezifischen Antikörper (DSA) gegen die nachfolgend erhaltenen Gefäßtransplantate nachweisen ließen. Diese präoperativ nachweisbaren Antikörper ließen sich als Folgeerscheinung früherer Transfusionen (ID 29 und ID 57) oder Schwangerschaften (ID 29 und ID 39) plausibel begründen. Im Gegensatz zu diesen Vorimmunisierungen zeigten nach der Transplantation alle bis auf zwei Patienten (ID 18 und 46), das heißt insgesamt 96% der Patienten eine Immunreaktion mit Antikörperbildung (siehe Tabelle 8 und 9). Für die Patienten der vorliegenden Arbeit wurden außerdem die präoperativ in keiner Weise berücksichtigten HLA-Merkmale von Spendergewebe und Empfänger verglichen, um aus diesen Informationen in den Empfängern auftretende HLA-spezifische Immunantworten abzuleiten. Konkret wurde für jede Spender-Empfänger-Kombination die sogenannte HLA A-B-DR-Mismatchformel generiert, die auch bei den präoperativen Vorbereitungen zur Einschätzung des Transplantationsrisikos anderer solider Organe (z.B. Niere) Anwendung findet. Dabei werden die Inkompatibilitäten (Mismatche) der Genloci HLA-A und HLA-B der MHC-Klasse I und des Genlocus HLA-DR der MHC-Klasse II von Spender und Empfänger verglichen. Die kalkulierten HLA-Mismatchformeln der gefäßtransplantierten Patienten sind in Tabelle 9 dargestellt.

**Tabelle 8: Empfänger/Spender Blutgruppen und HLA-Merkmale mit Angabe der Transplantat-spezifischen anti-HLA Antikörper**

BG-Rh E/S: Blutgruppe und Rhesusfaktor des Empfängers/Spenders; HLA-Klasse I und II Merkmale des Spenders: fett und unterstrichen sind die Spenderantigene, gegen welche nach der allogenen Gefäßtransplantation Antikörper nachweisbar waren; HLA-Klasse I und II Merkmale des Transplantatempfängers; Patient ID 65 erhielt zeitgleich zwei allogene Gefäßtransplantate

ID	BG-Rh E/S	Spender HLA Klasse I	Spender HLA Klasse II	Empfänger HLA Klasse I	Empfänger HLA Klasse II
1	AD/BD	A3, <u>24</u> ; B7,44,Bw4,6; Cw2,7	DR1; DQ1	A1,A2; B8,B37,Bw4,6; Cw6,7	DR3,15; DQ2,6
4	OD/Bd	A1, <u>2</u> ; <b>B8</b> ,Bw6; Cw7	DR3; DR52; DQ2	A3,A33; B14,B18,Bw6; Cw7,8	DR1,13; DQ 5,6
5	OD/BD	A3,28; B14,35,Bw6; Cw4,8	DR11,13; <u>DR52</u> ; DQ3	A3,A33; B14,B35,Bw6; Cw4,8	DR1,7; DQ 2,5
6	BD/OD	A3,25; B7,18,Bw6; Cw7	DR15; DR51; DQ1	A2,A11; B51,B35,Bw4,6; Cw1,4	DR1,15; DQ5,6
9	BD/AD	A3,30; B51, <u>18</u> ,Bw4,6; Cw1,5	DR3,4; <u>DR52</u> ,53; DQ2,3	A3,A24; B13,B47,Bw4; Cw6	DR4,7; DQ 3,2
11	OD/BD	A2,33; B14,40,Bw6; Cw??	<u>DR1</u> ;DQ??	A3,A24; B35,B60,Bw6; Cw3,4	DR4,8; DQ3
12	OD/AD	A2, <u>30</u> ; B13,62,Bw4,6; Cw3,6	DR1,13; DR52; DQ1	A2; B27,B62,Bw4,6; Cw2,3	DR4,7; DQ 3,2
13	Bd/AD	A3, <u>24</u> ; B7,35,Bw6; Cw4,7	DR4,11; <u>DR52</u> ,53; DQ3	A3; B35,B51,Bw4,6; Cw4	DR1,4; DQ2,3,5
14	OD/ABD	A3, <u>24</u> ; B7,Bw6; Cw7	DR1,15; DR51; DQ1	A3,A11; B7,B37,Bw4,6; Cw6,7	DR8,15; DQ4,6
16	Od/AD	A2,3; <b>B35</b> ,Bw6; Cw4	DR1,11; <u>DR52</u> ; DQ1,3	A2,A29; B7,B44,Bw4,6; Cw7	DR7,15; DQ2,6
18	AD/BD	A3; B7,Bw6; Cw7	DR15; DR51; DQ1	A3,A29; B18,B7,Bw6; Cw7	DR11,15; DQ 3,6
20	Bd/AD	A1,24; B57,27,Bw4; Cw2,6	DR7; DR53; DQ2	A1,A24; B51,B8,Bw4,6; Cw5,7	DR1,4; DQ3,5
28	OD/OD	A23,A30; <b>B44</b> ,13,Bw4; Cw4,6	<u>DR7</u> ; DQ2	A2,A26; B27,B38; Cw2,12	DR13; DQ6,7
29	AD/?	<u>A2,11</u> ; B7,13,Bw4,6; Cw6,7	DR15, <u>7</u> ; DQ6,2	A1,A30; B7,B8,Bw6; Cw7	DR3,15; DQ2,6
30	OD/?	A1,26; <b>B8,35</b> ,Bw6; Cw??	<u>DR1</u> ,17; DR52; DQ5,2	A1,A26; B45,B61,Bw6; Cw2,6	DR7,13; DQ5,9
31	OD/?	<u>A26</u> ; <b>B44</b> ,38,Bw4; Cw??	DR11,7; <u>DR52</u> ,53; DQ2,7	A3; B7,B40,Bw6; Cw2,3	DR8,15; DQ4,6
32	OD/AD	A3,25; B40,Bw6; Cw2,3	DR4,11; DQ3	A1,A2; B55,B62,Bw6; Cw3	DR4,11; DQ7,8
33	OD/?	<u>A2</u> ,31; B51,60,Bw4,6; Cw3	DR4,13; <u>DR52</u> ,53; DQ6,3	A3,A32; B7,B35,Bw6; Cw4,7	DR7,15; DQ2,6
34	OD/AD	<u>A1</u> ,3; B57,47,Bw4,6; Cw??	DR15,7; DR51,53; DQ1,2	A3,A23; B44,Bw4; Cw4,5	DR11,13; DQ3,6
35	Ad/OD	A2,29; B57,18,Bw4,6; Cw6	DR15,11; DR51, <u>52</u> ; DQ1,3	A23,A24; B7,B55,Bw6; Cw7	DR15,16; DQ5,6
36	AD/AD	<u>A1</u> ,3; B7,8,Bw6; Cw7	DR3, <u>13</u> ; DR52; DQ1,2	A3,A24; B8,B13,Bw4,6; Cw6,7	DR3; DQ2
37	Od/AD	A1; <b>B51,57</b> ,Bw4; Cw6	<u>DR7,10</u> ; DR53; DQ??	A1,A2; B7,B45,Bw6; Cw6,7	DR4; DQ7,8

Fortsetzung Tabelle 8: Empfänger/Spender Blutgruppen und HLA-Merkmale mit Angabe der Transplantat-spezifischen anti-HLA Antikörper

ID	BG-Rh E/S	Spender HLA Klasse I	Spender HLA Klasse II	Empfänger HLA Klasse I	Empfänger HLA Klasse II
38	BD/OD	A2; <b>B7</b> ,Bw6; Cw7	<b>DR8,15</b> ; DR51; DQ4,1	A2; B18,B53,Bw4,6; Cw4	DR13,14; DQ5,6
39	OD/OD	<b>A1,2</b> ; <b>B49,51</b> ,Bw4; Cw4,7	<b>DR1,8</b> ; DQ1,4	A25,A29; B44,B62,Bw4,6; Cw3	DR7,13; DQ2,6
40	ABD/OD	A3, <b>24</b> ; B35, <b>57</b> ,Bw4,6; Cw4,6	<b>DR1,7</b> ; DR53; DQ1,3	A3,A31; B16,B60,Bw6; Cw3,7	DR11,16; DQ7,5
43	BD/Ad	<b>A2,24</b> ; B7,B39,Bw6; Cw7	<b>DR8,15</b> ; DR51; DQ??	A3,A32; B7,B27,Bw4,6; Cw2,7	DR9,15; DQ6,9
44	AD/BD	<b>A1,11</b> ; B27,35,Bw4,6; Cw2	<b>DR4,7</b> ; DR53; DQ2,3	A2,A28; B44,B62,Bw4,6; Cw3,7	DR11,13; DQ6,7
45	Ad/?	<b>A1,3</b> ; <b>B8,44</b> ,Bw4,6; Cw5	<b>DR3,4</b> ; DR52,53; DQ2,3	A2,A24; B44,B57,Bw4; Cw6	DR1,7; DQ5,9
46	AD/AD	A2,32; B15,15,Bw6; Cw1,3	DR6; DR52; DQ1	A2; B35,B39,Bw6; Cw4,7	DR7,11; DQ2,7
47	OD/AD	<b>A1,24</b> ; B8,39,Bw6; Cw7,	<b>DR3,11</b> ; DR52; DQ2,3	A24,A25; B7,Bw6; Cw7	DR1,15; DQ5,6
48	OD/OD	<b>A2,23</b> ; <b>B44</b> ,Bw4; Cw4,5	DR1,7; DR53; DQ??	A1; B8,Bw6; Cw7	DR17; DQ2
49	OD/OD	<b>A25,28</b> ; B18,60,Bw6; Cw3	DR3,13; DQ6,2	A2,A3; B7,B16,Bw4,6; Cw7	DR13,15; DQ6
50	AD/AD	<b>A2,3</b> ; B57,18,Bw4,6; Cw3,6	DR11, <b>7</b> ; <b>DR52,53</b> ; DQ3	A3; B7,B62,Bw6; Cw3,7	DR1,15; DQ5,6
51	AD/OD	A2; B51,Bw4; Cw??	<b>DR3,11</b> ; DR52; DQ2,3	A2,A24; B27,B51,Bw4, Cw1,2	DR1,16; DQ5
53	ABD/OD	A2; B44, <b>62</b> ,Bw4,6; Cw3,5	DR4,13; DR52,53; DQ??	A2; B44,B62,Bw4,6; Cw3,5	DR4,13; DQ6,7
57	AD/ABD	<b>A1,2</b> ; B8,38,Bw4,6; Cw3,7	DR3,13; DR52; DQ1,2	A3,A32; B35,B61,Bw6; Cw2,4	DR1,13; DQ 5,6
58	OD/OD	<b>A1</b> ; <b>B8,37</b> ,Bw4,6; Cw??	DR3, <b>10</b> ; DR52; DQ5,2	A2,A31; B27,B62,Bw4,6; Cw2,3	DR4,13; DQ6,3
60	AD/AD	A2;B8,50, <b>Bw6</b> ; Cw6,7	<b>DR3,7</b> ; DR52,53; DQ2	A2,A28; B51,Bw4; Cw4	DR1,4; DQ5,8
62	ABD/OD	<b>A3</b> ; <b>B35</b> ,Bw6; Cw4	<b>DR1,11</b> ; DR52; DQ1,3	A2; B7,B12,Bw6; Cw6,7	DR2,4; DQ 5,7
65	AD/AD	<b>A2,3</b> ; B7,62,Bw6; Cw3,7	DR13, <b>15</b> ; DR51,52; DQ6	A2,A11; B55,B57,Bw4,6; Cw3,6	DR7,14; DQ5,7
	AD/AD	<b>A3</b> ,A68,B35,B56,Bw6,Cw4,7	<b>DR1,11</b> ,DR52; DQ5,DQ7	"	"
66	BD/BD	<b>A24,32</b> ; B7,39,Bw6; Cw7,12	<b>DR15,16</b> ; DR51; DQ5,6	A1,A3; B8,B35,Bw6; Cw7	DR11,17; DQ2,7
67	OD/AD	<b>A2,3</b> ; B7, <b>60</b> ,Bw6; Cw7,3	<b>DR13,15</b> ; DR52,51; DQ6	A1,A24; B37,B57,Bw4; Cw6	DR1,7; DQ5,9
69	ABD/AD	<b>A3,29</b> ; <b>B51,35</b> ,Bw4,6; Cw??	<b>DR8,11</b> ; DR52; DQ3,4	A2; B44,B62,Bw4,Bw6; Cw4,5	DR4,7; DQ7,9

**Tabelle 9: Darstellung der HLA-Kompatibilität von Spender und Empfänger unter Verwendung der HLA A-B-DR Mismatchformel und Angabe der prä- und post-operativen HLA-Panelreaktivität als Maß des Immunisierungsgrades**

prä-ELISA und prä-PRA: anti-HLA-Antikörper Screen-ELISA-Resultat und maximale anti-HLA Antikörper Panelreaktivität **vor** der Transplantation;

HLA A-B-DR Mismatchformel: Angabe der HLA-Inkompatibilitäten für die HLA-Klasse I Merkmale (HLA-A und -B) und das HLA-Klasse II Merkmal (HLA-DR);

post-ELISA und post-PRA: anti-HLA-Antikörper Screen-ELISA-Resultat und maximale anti-HLA Antikörper Panelreaktivität **nach** der Transplantation

ID	prä-ELISA	prä-PRA	HLA A-B-DR-Mismatchformel	Mismatche	post-ELISA	post-PRA
1	neg	0	2-2-1	5	pos	36
4	neg	0	2-1-1	4	pos	66
5	neg	0	1-0-2	3	pos	73
6	neg	0	2-2-0	4	pos	50
9	neg	0	1-2-1	4	pos	100
11	neg	0	1-2-2	5	pos	68
12	neg	0	1-1-2	4	pos	96
13	neg	0	1-1-1	3	pos	72
14	neg	0	1-0-1	2	pos	28
16	neg	0	1-1-2	4	pos	94
18	neg	0	0-0-0	0	neg	0
20	neg	0	0-2-1	3	pos	23
28	neg	0	2-2-1	5	pos	53
29	pos	20	2-1-1	4	pos	95
30	neg	0	0-2-2	4	pos	87
31	neg	0	1-2-2	5	pos	100
32	neg	0	2-1-0	3	pos	100
33	neg	0	2-2-2	6	pos	79
34	neg	0	1-2-0	3	pos	40
35	neg	0	2-2-1	5	pos	100
36	neg	0	1-1-1	3	pos	47
37	neg	0	0-2-2	4	pos	93
38	neg	0	0-1-2	3	pos	40
39	pos	48	2-2-2	6	pos	99
40	neg	0	1-2-2	5	pos	73
43	neg	0	2-1-1	4	pos	88
44	neg	0	2-2-2	6	pos	98
45	neg	0	2-1-2	5	pos	82

**Fortsetzung Tabelle 9: Darstellung der HLA-Kompatibilität von Spender und Empfänger unter Verwendung der HLA A-B-DR Mismatchformel und Angabe der prä- und post-operativen HLA-Panelreaktivität als Maß des Immunisierungsgrades**

ID	prä-ELISA	prä-PRA	HLA A-B-DR-Mismatchformel	Mismatche	post-ELISA	post-PRA
46	neg	0	0-1-1	2	neg	0
47	neg	0	1-2-2	5	pos	91
48	neg	0	2-1-2	5	pos	97
49	neg	0	2-2-1	5	pos	20
50	neg	0	1-2-2	5	pos	94
51	neg	0	0-0-2	2	pos	54
53	neg	0	0-2-2	4	pos	88
57	pos	77	2-2-1	5	pos	66
58	neg	0	1-2-2	5	pos	62
60	neg	0	0-2-2	4	pos	94
62	neg	0	1-1-2	4	pos	83
65	neg	0	1-2-2	5	pos	96
	"	"	2-2-2	6	pos	96
66	neg	0	2-2-2	6	pos	98
67	neg	0	2-2-2	6	pos	98
69	neg	0	2-2-2	6	pos	88

Die Anzahl der HLA-Mismatches repräsentiert die Wahrscheinlichkeit einer anti-HLA Immunantwort. Resultierend aus dem ko-dominanten Erbgang der HLA-Merkmale werden für jeden berücksichtigten Genort maximal zwei Punkte für die in der Regel heterozygot vorliegenden nicht kompatiblen HLA-Merkmale zugeteilt. Somit beträgt die maximale Punktzahl, die für die ungünstigste Merkmalskombination von Spender und Empfänger vergeben wird, sechs Punkte, repräsentiert durch die Formel: HLA A-B-DR: 2-2-2. Der bestmöglichen Kompatibilität zwischen Spender und Empfänger (einer sogenannten „Full-House Spende“) für die drei berücksichtigten Genloci liegt die Mismatchformel HLA A-B-DR: 0-0-0 zu Grunde. Grundsätzlich gilt mit Ausnahme der Leber für alle transplantierten soliden Organe, dass mit zunehmendem Mismatchgrad (d.h. abnehmender HLA-Kompatibilität) die Wahrscheinlichkeit der für das Transplantat hochgradig schädlichen humoralen Rejektionsepisoden zunimmt und das statistische Transplantatüberleben abnimmt.

Eine Klassifizierung der HLA-Kompatibilität in Anlehnung an die *Collaborative Transplant Study* der Universität Heidelberg (Opelz und Mitarbeiter) für weltweit durchgeführte Transplantationen der Niere wurde in der Weise durchgeführt, dass ein Mismatchgrad von 0-2 als gut zu bewerten ist (grüne Darstellung, Tabelle 10). Lediglich 4/44 Gefäßtransplantierte (9%) [ID 14, 18, 46, 51] wurden folglich mit optimalen oder guten HLA-Kompatibilitäten transplantiert. Der durchschnittliche maximale PRA-Wert betrug postoperativ bei diesen Patienten nur 21% (Tab. 9). Eine mittlere HLA-Kompatibilität liegt mit drei inkompatiblen HLA-Genen vor (gelbe Darstellung, siehe Tabelle 10). Nur eine ebenfalls relativ geringe Anzahl an Gefäßtransplantationen (7/44 bzw. 16%) der Patienten [z.B. ID 5, 20, 36] wurden unter diesen immunologischen Bedingungen der HLA-Kompatibilität durchgeführt (Tab. 10). Der maximale postoperative PRA-Wert lag bei diesen Transplantationen entsprechend bei einem mäßigen aber gegenüber der „grünen Gruppe“ deutlich erhöhten Wert von durchschnittlich 56% (Tab. 9).

**Tabelle 10: Verteilung der individuellen HLA A-B-DR Inkompatibilitäten (HLA-Mismatche) unter den Spender/Empfängerkombinationen der Gefäßtransplantationen (n = 44) und dreistufige Klassifizierung der Transplantationen in Abhängigkeit von der Kompatibilität der HLA-Merkmale**

*Dargestellt sind die prozentualen Anteile der hinsichtlich der HLA-Kompatibilität optimal bis gut (0-2 MM, grüne Darstellung), mittelmäßig (3 MM, gelbe Darstellung), bzw. schlecht bis maximal inkompatibel (4-6 MM, rote Darstellung) transplantierten Patienten.*

Anzahl Mismatche	Anzahl vorgenommener TX je Mismatch / Anzahl der Gefäß-TX (gesamt)	Klassifizierung der Inkompatibilitäten, Anteil an Gesamt-TX (%)
<b>6</b>	<b>7/44</b>	<b>33/44 <math>\hat{=}</math> 75%</b>
<b>5</b>	<b>14/44</b>	
<b>4</b>	<b>12/44</b>	
<b>3</b>	<b>7/44</b>	<b>7/44 <math>\hat{=}</math> 16%</b>
<b>2</b>	<b>3/44</b>	<b>4/44 <math>\hat{=}</math> 9%</b>
<b>1</b>	<b>0/44</b>	
<b>0</b>	<b>1/44</b>	

Dagegen wurden 33/44 Empfängern (75%) Gefäßtransplantate (z.B. ID 4, 11, 39) mit einem relativ schlechten bis maximal ungünstigen Mismatchgrad von 4-6 (rote Darstellung, Tab. 10) implantiert. Der durchschnittlich gemessene PRA-Wert bei den niedrig kompatibel transplantierten Patienten war postoperativ mit Abstand am höchsten (PRA-Wert=83%, siehe Tabelle 9).

Aufgrund der immunologischen Zufallsauswahl ohne jede Berücksichtigung von HLA-Kompatibilitäten und dem hochgradigen Polymorphismus der HLA-Merkmale in einer Zufallspopulation entsprechen die dargestellten Mismatch-Verhältnisse transplantiertes

Gefäße (insbesondere ein Anteil von 75% schlecht bis sehr schlecht HLA-kompatibler Transplantate) in vollem Umfang dem ungünstigen Erwartungswert.

Den schlechten immungenetischen Bedingungen dieser Transplantationen folgend, wurden gegen insgesamt 39 der 44 allogenen Gefäßtransplantate (89%) Donorspezifische Antikörper im Empfängerorganismus gebildet, die der virtuellen Analyse zufolge eindeutig als HLA-spezifisch und Spender-spezifisch zu klassifizieren waren (Tab. 8). Screen-ELISA-Testungen der überragenden Mehrheit von 42 nachweisbaren d.h. positiven anti-HLA Antikörperreaktionen als Folge der allogenen Gefäßtransplantation wurden durch positive PRA-Werte (von 23% bis 100%) der Spezifizierungsassays unterstützt (Tab. 9). Bei 26 der Gefäßtransplantationen (59%) konnte eine Donor-spezifische Antikörperreaktion gegen die Spendermerkmale beider HLA-Klassen nachgewiesen werden (Tab. 8). Der mittlere PRA-Wert betrug dabei 85% (z.B. ID 16, 62, 28) [Tab. 9]. Bei neun Transplantationen (21%) wurden lediglich DSA gegen die HLA-Merkmale der Klasse I (Tab. 8) mit einem durchschnittlich niedrigeren PRA-Wert von 60% gebildet (z.B. ID 1, 34, 14) [Tab. 9]. In der Folge von vier Gefäßtransplantationen (9%) wurden hingegen nur DSA gegen die Merkmale der HLA-Klasse II des Spenders (Tab. 8) mit einem durchschnittlichen PRA-Wert von 74% nachgewiesen (ID 5, 11, 35, 51) [Tab. 9]. Bei drei Transplantationen (7%) [ID 6, 20 und 32] mit nachweisbarer anti-HLA-Antikörperreaktion ließen sich die Antikörperspezifitäten nicht eindeutig bestimmen (durchschnittlicher PRA-Wert=58%) [Tab. 8 und 9]. Bei diesen nicht eindeutig zu spezifizierenden, jedoch positiven Antikörperreaktionen konnten und können DSA allerdings nicht grundsätzlich ausgeschlossen werden. Aufgrund des vorgenommenen Nachweises, dass die Antikörperbildungen eindeutig humorale Reaktionen gegen die allogenen Gefäßtransplantate darstellen, ist auch bei diesen Patienten die Ausbildung von DSA geradezu wahrscheinlich. Die Schwierigkeiten, die Bildung von DSA über eine virtuelle Verträglichkeitsprobe (virtueller Kreuztest) immer verlässlich herauszufinden, werden in der Diskussion erneut aufgegriffen. Bei zwei Transplantationen (4%) [ID 18 und 46] waren postoperativ grundsätzlich keine anti-HLA-Antikörper im Empfängerserum nachweisbar, was sich sowohl in negativen Screen-ELISA Testungen zeigte als auch in den auf Luminex-Spezifizierungsassays basierenden PRA-Werten von 0% widerspiegelte. Erwartungsgemäß war die Mismatchanzahl bei diesen Spendern gering und die genetische Spender/Empfänger-Kombination somit zufälligerweise gut. Dabei trat sogar eine „Full House-Spende“ auf [ID18] (Tab. 9), bei der „erwartungsgemäß“ eine gegen das Transplantat gerichtete Immunreaktion ausgeblieben ist. An dieser Stelle sei bemerkt, dass dieses Transplantat ab Implantationsdatum ohne jegliche Komplikation insgesamt für 6,5 Jahre bis zum Abschluss der Studie funktionstüchtig

war. Bei der zweiten Transplantation ohne humorale Immunreaktion im Empfängerorganismus handelt es sich um die Transplantation mit der ID 46, bei der lediglich zwei HLA-Mismatches (MM-Formel aufführen) vorlagen. Dieses Transplantat war ebenfalls komplikationslos mehr als 2 Jahre bis zum Studienende beobachtet worden. Es zeigte sich, dass eine derartige als gut zu klassifizierende HLA-Kompatibilität eine humorale Immunreaktion umgehen kann.

Die den einzelnen Gefäßtransplantationen zu Grunde liegenden HLA-Antigene von Empfänger und Spender und die später gegen das Transplantat gerichteten anti-HLA Antikörper sind in Tab. 8 dargestellt. Um die in dieser Arbeit aufgezeigte schlechte transplantationsimmunologische Ausgangssituation durch präoperativ nicht auf Kompatibilität abgeglichenen HLA-Merkmale von Spendern und Empfängern der allogenen Gefäßtransplantate zu verdeutlichen, sind in Tabelle 9 die kalkulierten HLA A-B-DR-Mismatchformeln mit den zugehörigen prä- und postoperativen ELISA-Testergebnissen und maximal gemessenen PRA-Werten der Gefäßtransplantationen aufgezeigt. Tabelle 10 zeigt eine Übersicht über die Häufigkeiten der Mismatches.

#### **4.2.2. Histologische Analyse der entnommenen Gefäßtransplantate auf zelluläre und humorale Abstoßungsreaktionen**

Von 15 Transplantaten wurde während des Nachbeobachtungszeitraums eine Probeexzision des allogenen Gefäßes zur Überprüfung von Abstoßungsreaktionen oder Entzündungsvorgänge entnommen. Die Lokalisationen sowie die postoperativen Komplikationen der verwendeten Gefäße können in Tabelle 7 eingesehen werden. Von sechs dieser Transplantate (ID 7, 19, 25, 34, 53 und 58) wurden die Gewebeproben im Rahmen von Transplantatentfernungen oder im Rahmen einer lebensrettenden Amputation bei persistierenden Infektionen entnommen. Aufgrund des infektiösen Geschehens ohne Heilungserfolg wurden diese Transplantate nur zur Untersuchung und Beurteilung des Übergreifens der Entzündung auf das allogene Transplantat herangezogen. Zur Vermeidung verfälschter Ergebnisse durch bakteriell-induzierte entzündliche Veränderungen wurden diese Transplantate für die Beurteilung möglicher zellulärer Veränderungen der arteriellen Transplantate aufgrund immunhistochemischer Abstoßungsreaktionen nicht verwendet.

Die anderen histologisch untersuchten Transplantate (n=9) konnten mit aufgrund eines guten Ausgangszustandes auf Veränderungen untersucht werden, welche gegebenenfalls durch eine allospezifische Immunreaktion im Empfängerorganismus hervorgerufen worden waren. Die HLA-Merkmale der allogenen Gefäßtransplante und die möglicherweise gebildeten transplantatspezifischen anti-HLA Antikörper sind in Tabelle 8 dargestellt. In allen diesen Fällen war die Protheseninfektion durch das

arterielle Interponat ausgeheilt. Aufgrund der großen zeitlichen Unterschiede zwischen Transplantation und Gewebeentnahme (14 Tage bis 5,7 Jahre) und einer erwarteten verzögerten histologisch manifesten Auswirkung der Immunreaktionen erfolgte eine Einteilung der Gewebeproben in Frühentnahmen (< 6 Monate) und Spätentnahmen (> 6 Monate).

Die früh untersuchten Transplantate ID 24 (nach 45 Tagen), ID 28 (nach 15 Tagen) und ID 62 (nach 14 Tagen) zeigten in den mikroskopischen Untersuchungen präoperativ einen weitgehend unauffälligen arteriellen Gefäßaufbau mit allenfalls leichter Arteriosklerose ohne entzündliche Veränderungen. Postoperativ wurden nun mikroskopisch entzündliche Veränderungen mit Lymphozyten (ID 28 und 62) oder eine infiltrative Veränderung durch Lymphozyten und Granulozyten sichtbar (ID 24). Eine Ausnahme zeigte das Transplantat ID 38, das schon präoperativ eine ausgeprägte Mediasklerose und Intimafibrose aufzeigte. Eine akute Abstoßungsreaktion mit resultierendem Funktionsverlust des allogenen Gefäßtransplantates im Folgezeitraum von etwa einem Monat, wie sie bei differenzierten Organen (z.B. Niere) gelegentlich zu beobachten ist, trat bei den arteriellen Transplantaten trotz weitgehender bzw. teilweise kompletter Inkompatibilität der HLA-Antigene (siehe Tabelle 8 und 9) und den beobachteten Infiltrationen von Lymphozyten und Granulozyten grundsätzlich nicht auf, die beobachteten Veränderungen könnten jedoch einer akuten zellulären Abstoßungsreaktion differenzierter Organe entsprechen.

Je länger sich der postoperative Zeitraum erstreckte, desto häufiger fanden sich mikroskopisch humorale und zelluläre Veränderungen in den untersuchten Transplantaten. Bei den Transplantaten mit späten histologischen Untersuchungen (ID 1 [30 Monate], ID 5 [33 Monate], ID 11 [54 Monate], ID 16 [96 Monate], ID 43 [9 Monate] und ID 64 [8 Monate]) konnten transmural regressive Gewebsveränderungen beobachtet werden. So zeigte die *Intima* eine verstärkte Kollagenose mit konsekutiver Hypertrophie/Hyperplasie. Außerdem wurden in der *Lamina elastica interna* mikroskopisch auch vermehrt schaumzellige Makrophagen entdeckt. In den Befunden wurde bezüglich der Tunica media u.a. ein deutlicher Verlust glatter Muskelzellen nachgewiesen. Ebenso fanden sich teils ausgeprägte fibrosklerotische Veränderungen von kollagenem Bindegewebe und elastischen Fasern in der *Tunica adventitia*. Konträr zu diesen Beobachtungen konnten in wenigen Transplantaten trotz stark kollagenisierter *Tunica adventitia* allerdings noch kleinere Gefäße (*Vasa vasorum*) beobachtet werden (ID 1 und ID 16). Da in den älteren Transplantaten ebenso auffällige Lymphozyten- und Granulozytenansammlungen in der *Tunica media* und *adventitia* beobachtet wurden (ID 1, 11, 16, 43, 64), ist zu vermuten, dass die beobachteten histo-pathologischen Gefäßveränderungen auf zelluläre und humorale

immunologische Abstoßungsreaktionen zurückzuführen sind. Diese Mutmaßung wird durch den Aspekt bekräftigt, dass die in der vorliegenden Studie beobachteten Veränderungen mit den beschriebenen zellulären und humoralen histologischen Veränderungen nach Gefäßtransplantationen korrelieren (siehe Punkt 1.4.). Hervorgehoben sei an dieser Stelle erneut die eindeutig nachweisbare massive humorale Immunantwort, die sich als Folge der Konfrontation mit dem allogenen Gefäßtransplantat für alle Rezipienten in einer massiven Erhöhung HLA- und Spender-spezifischer Antikörper zeigte (siehe Tabelle 8 und 9). Für etwa 90% der Patienten resultierte aus dieser allogenen Immunisierung eine Generierung von klar als solchen zu definierenden Donor-spezifischen anti-HLA Antikörpern, die für solide Organe transplantationsimmunologisch als Hauptabstoßungsgrund gelten und pharmakologisch bzw. physikalisch therapeutisch nur schwer oder gar nicht zu bekämpfen sind. Eine von diesen Antikörpern ausgehende Bekämpfung des Transplantates findet folglich mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit statt, so dass die beobachteten postoperativen degenerativen Gewebeveränderungen mit ebenso hoher Wahrscheinlichkeit auf die Existenz dieser Antikörper zurückzuführen sind. Die klinischen Verläufe, die Komplikationen und die Ergebnisse der pathologischen Untersuchungen sind für alle Patienten in Tabelle 7 dargestellt. Die Blutgruppen der Empfänger und Spender, der prä- und postoperative anti-HLA Antikörperstatus des jeweiligen Empfängers und die zugehörigen HLA-Merkmale der Spender sind in Tabelle 8 für jede Transplantation einzeln aufgeführt. Der Tabelle 9 sind die zumeist geringen HLA-Kompatibilitäten zwischen den Transplantaten und den Empfängern sowie die daraufhin postoperativ nachweisbaren Immunisierungen der Empfänger/Patienten, dargestellt durch den PRA-Wert, zu entnehmen.

## **5. Diskussion**

### **5.1. Klinische Risikoanalyse des Patientenkollektivs der vorliegenden Arbeit im Vergleich zu den Kollektiven anderer Studien**

Im Zeitraum von November 2000 bis Dezember 2009 wurden 67 Patienten mit der Diagnose einer Gefäßbypassinfektion im arteriellen Gefäßsystem am Universitätsklinikum Leipzig aufgenommen, um sie der kurativen Therapie einer allogenen Gefäßtransplantation zuzuführen. Das Therapieziel bestand darin, sowohl eine Ausheilung der Infektion als auch eine nachhaltig suffiziente Durchblutung der betroffenen Extremitäten zu gewährleisten. Als allogene Gefäßtransplantate wurden humane arterielle Gefäßpräparate (Frisch- und Kryopräparate) hirntoter Spender verwendet. Angemerkt sei hier, dass in Deutschland nach Inkrafttreten des neuen Gewebegesetzes aus dem Jahre 2007 mit den Übergangsvorschriften nach §142 AMG (Arzneimittelgesetz) der Transplantation von frischen arteriellen Gefäßen die gesetzliche Grundlage entzogen wurde. Somit war mit der Rücknahme des Antrages des Universitätsklinikums Leipzig auf die zuvor erteilte Genehmigung von Gewebezubereitungen gemäß § 21a AMG ab dem 09.06.2010 keine Transplantation von Frischpräparaten mehr möglich. Es dürfen seitdem nur noch kryokonservierte allogene Arterien transplantiert werden [61]. Für die funktionell-klinische Evaluation des Einsatzes der arteriellen Homografts wurden die entsprechenden Daten von allen 67 Patienten ausgewertet. Aufgrund der nur für eine Minderheit der Patienten (n=11) vorliegenden Ergebnisse zu histo-pathologischen Prozessen als Folge einer Abstoßung transplantierte allogener arterieller Gefäße erfolgte für die Patienten im Rahmen dieser Arbeit eine Analyse der Allotransplantat-spezifischen humoralen Immunreaktionen. Die Tatsache, dass die diesbezüglich notwendigen Daten einer HLA-Typisierung von Spender und Empfänger mit den entsprechenden Antikörperanalysen der Empfänger nur für 43 Patienten komplett verfügbar waren, schränkte die Auswertung des ursprünglich aus 67 Patienten bestehenden Kollektivs jedoch um 35% auf 43 Patienten ein. Da einer der 43 verbleibenden Patienten zwei Gefäßtransplantate erhielt, liegen den immunologischen Analysen, die auf Transplantationen als immunisierende Ereignisse und nicht auf die Patientenanzahl zu beziehen sind, 44 statt 43 Ereignisse zu Grunde. Folglich wurden 44 Gefäßtransplantationen hinsichtlich ihrer transplantatspezifischen humoralen Immunantworten, die gegen HLA-Antigene des jeweiligen Spenders gerichtet waren, ausgewertet. Die aufschlussreichen immunologischen Ergebnisse mit einer stark ausgeprägten anti-HLA Antikörperbildung gegen die allogenen Gefäßtransplantate konnten bei elf Transplantaten begleitend durch Biopsien auf eine nachfolgende histopathologisch manifeste Abstoßungsreaktion untersucht werden. Weiterhin wurden sechs weitere Transplantate mikroskopisch auf

ein Übergreifen der initialen Entzündung auf das Gefäß untersucht, um Erkenntnisse zur „Resistenz“ des natürlichen Gewebes zu gewinnen.

Derzeit existieren vier verschiedene etablierte Strategien zur Behandlung von Bypassinfektionen: i) der extraanatomische Bypass, ii) die Verwendung eines autologen femoro-poplitealen Venenersatzes, iii) eine antibakteriell wirksame Gefäßprothese (Silber-beschichtet oder Rifampicin-getränkt) und iv) die allogene Arterientransplantation.

Der chirurgisch kurative Einsatz einer allogenen arteriellen Transplantation nach Gefäßbypassinfektionen wurde für die Patienten der vorliegenden Studie gewählt, da die körpereigenen Venen zum Zeitpunkt der Erkrankung nicht zur Verfügung standen.

Mit der Heilung der von einer Amputation bedrohten Extremität (sogenannte limb salvage) in bis zu 89-100% der Fälle, 0-5%iger Reinfektionsrate und 0-7%iger Amputationsrate erreichen die autologen Venentransplantate als Therapieverfahren zur Ausheilung von Gefäßbypassinfektionen die Bestwerte [62,63,64]. Die *Vena femoralis superficialis* darf hierbei aufgrund des komplikationsärmeren Verlaufes als das Material der Wahl angesehen werden. Postoperative okkludierende Vorgänge in implantierten Venen treten bei einer in-situ Anlage häufig nur klinisch durch *Claudicatio intermittens* auf, wiedereröffnende operative Maßnahmen müssen bei wenigen Patienten durchgeführt werden (0-7%) [21,62,63,64]. Die autologe *Vena femoralis superficialis* wird sehr erfolgreich bei aortalen Bypassinfektionen als Anlage eines sogenannten neo-aortoiliakalen Systems (NAIS) eingesetzt [62]. Bei der Eigentransplantation der *Vena saphena magna* in der aufgeführten Indikation ereigneten sich zwar häufiger Gefäßverschlüsse, die interventionell oder operativ behandelt werden mussten, die Ergebnisse waren jedoch trotzdem sehr gut. Grundsätzlich wird dies auf das im Vergleich zu der *Vena femoralis superficialis* geringere Gefäßlumen und daraus resultierende Thrombosierungen zurückgeführt [21]. Bei den Patienten der vorliegenden Arbeit standen die körpereigenen Venen wie bereits erwähnt aufgrund zumeist vorbestehender hochgradiger pAVK mit vielen bereits durchgeführten invasiven gefäßchirurgischen Eingriffen nicht mehr zur Verfügung. Die eingeschränkte Verfügbarkeit des autologen Venenmaterials bei Patienten mit Gefäßbypassinfektionen stellt ein gängiges Problem dar [21], weshalb diese Patienten einer alternativen Therapie wie der allogenen Arterientransplantation zugeführt werden müssen. Es sei ergänzend bemerkt, dass sich eine körpereigene Vene nur zur Exzision und Verwendung im arteriellen Gefäßsystem eignet, wenn sie zuvor nicht thrombosiert war. Zudem wird zu Ungunsten der autologen Venentransplantation erwähnt, dass sich die Präparation bzw. Exzision der Vene kompliziert und zeitintensiv gestalten kann, wofür auch Vernarbungen im Exzisionsgebiet aufgrund von Voroperationen im arteriellen

Gefäßsystem ursächlich sein können [65]. Die Veneneigentransplantation stellt mit sechs bis acht Stunden Dauer grundsätzlich das längste operative Verfahren zur Behandlung von Gefäßbypassinfektionen dar [21,64]. Folglich muss bei häufig bestehender Multimorbidität (z.B. schwere chronisch obstruktive Bronchitis) und teilweise erheblich reduziertem Allgemeinzustand der Patienten wegen des Operationsrisikos eine andere Behandlungsmethode gewählt werden. Hier bietet sich die *in-situ* Transplantation von arteriellen Allografts als deutlich kürzeres Verfahren mit einer Operationsdauer durchschnittlich vier Stunden an.

Der negative Aspekt einer zeitaufwendigen Operation gilt mit durchschnittlich sechs Stunden Dauer auch für die extra-anatomische Bypassanlage als Therapie einer Gefäßbypassinfektion [18]. Nach sehr hohen anfänglichen Komplikationsraten zeigten Studien einen Fortschritt, indem sowohl die Mortalität als auch die Amputationsraten bei den Patienten zunächst deutlich gesenkt werden konnten [18,66]. Langzeiterfolge erwiesen sich aber weiterhin durch zahlreiche Transplantatverschlüsse (35-39% der Fälle) mit nachfolgenden Amputationen (9-11% der Fälle) als eingeschränkt. Im Rahmen der extra-anatomischen Bypassanlagen waren 8-10% der Patienten von Reinfektionen betroffen; die Häufigkeit von Rupturen der neuangelegten Bypässe wird mit 4-9% beziffert [18,67,68,69,70]. Zusätzlich stellt das Problem eines Platzens des aortalen Stumpfes bei extra-anatomischen Bypässen mit folgeschweren Blutungskomplikationen für bis zu 9% des Patientenkollektives weiterhin ein manifestes Problem dar [68,71]. Aufgrund aller genannten Erkenntnisse verlor der ehemals als „Gold-Standard“ ausgewiesene extra-anatomische Bypass zunehmend an Bedeutung, so dass die *in-situ* Operation nachfolgend deutlich bevorzugt wurde [72]. Als klare Indikation für extra-anatomischen Bypassanlagen muss an dieser Stelle jedoch die entero-prothetische Fistelung (EPF) genannt werden. Bei der *in-situ* Behandlung dieses Krankheitsbildes mit arteriellen Allografts ergab sich eine postoperative Mortalität von bis zu 83% (14/17 Patienten) [33].

Für die Verwendung antibakteriell-behandelter Prothesen zur Behandlung der Gefäßprotheseninfektionen liegt nur eine geringe Anzahl an Studien mit ebenso geringen Teilnehmerzahlen vor, so dass die Angaben insgesamt nur als eingeschränkt repräsentativ gelten können. Auf eine Phase der experimentellen Erprobung dieser Methode an Hunden [73,74] folgten kleinere klinische Studien mit in Rifampicin-getränkten Dacron-Prothesen [69,71,75-78]. Drei Studien charakterisieren diesen Ansatz bei Heilungsraten von jeweils 100% zunächst als vielversprechend, denn die Extremitäten sämtlicher Patienten konnten in all diesen Studien gerettet werden. Prothesenverschlüsse wurden als Früh- und Spätthrombosen in nur einer Studie mit 18%iger Häufigkeit beobachtet [69]; diese konnten jedoch in allen Fällen interventionell

wiedereröffnet werden. Bei den anderen Studien mit Rifampicin-getränkten Alloplastiken wurden Verschlüsse bisher nur als Einzelfälle erwähnt. Auch eine Reinfektionsrate von 4-11% repräsentiert ein bemerkenswert positives Ergebnis. Einschränkend für dieses Verfahren muss allerdings erwähnt werden, dass der Einsatz der Antibiotikum-getränkten Gefäßprothesen vor allem bei leichteren Infektionen ohne größere perivaskuläre Ansammlungen von Wundsekret und bei Infektionen durch Erreger mit vermeintlich geringem pathogenem Potential (z.B. *Staphylococcus epidermidis*) angewendet wurde. Dagegen kamen autologe venöse und allogene arterielle Gefäße seit über 20 Jahren zur Heilung von schwersten Wundinfektionen einer infizierten Gefäßkunsstoffprothese mit guten Erfolgen zum Einsatz. Berücksichtigt werden muss auch, dass im Rahmen der Zunahme der nosokomialen Entzündungen mit Ausbildung hochgradiger Multiresistenzen der Erreger bereits mehrfach Gefäßbypassreinfektionen durch Rifampicin-resistente Stämme von *Staphylococcus epidermidis* beobachtet wurden [78]. Zusätzlich erwiesen sich die antibiotisch mit Rifampicin behandelten Prothesen gegen Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) und *Escheria coli* als nicht ausreichend wirksam. Von generellem Nachteil ist die Tatsache, dass die antimikrobielle Eigenschaft durch die Ausspülung des Antibiotikums nach dem Anschluss an die Blutzirkulation nur für wenige Tage erhalten bleibt [76,78-81]. Aus diesen Gründen wird von einer Verwendung der antibiotisch behandelten Prothesen bei schweren Infektionen mit Abszessbildungen oder größeren Mengen an vorhandenem Wundsekret grundsätzlich abgeraten [77].

Die InterGard-Silber (IGS)-Prothese (InterVascular, La Ciotat, Frankreich) ist mit Kollagen und Silberacetat beschichtet und nutzt so die allgemein bekannten bakteriziden/antiseptischen Eigenschaften von Silber. Silber als Oberflächenbeschichtung zur Abwehr von bakteriellen Infektionen weist eine gute Biokompatibilität auf und wurde hinsichtlich seiner Effizienz sowohl experimentell *in vitro*, tierexperimentell bei Hunden als auch klinisch in der implantativen Medizin getestet [82-85]. Durch die Verwendung der IGS-Prothese kann das Risiko einer Rezidiventzündung durch resistente oder multiresistente Erreger, wie es bei der Rifampicin-getränkten Dacron-Prothese gelegentlich auftritt, umgangen werden. Die Freisetzung des Silbers erfolgt über einen längeren Zeitraum, d.h. vermehrt in den ersten Tagen und dann in abnehmender Konzentration in den folgenden Wochen nach Implantation. Laut Hersteller bietet die IGS-Prothese für den Zeitraum von vier Wochen eine protektive antibakterielle Wirkung. Eine entsprechend geringe Reinfektionsrate von 4-16% bescheinigt der IGS-Methode grundsätzlichen Erfolg zur Behandlung der Bypassinfektionen. Bemerkenswerterweise wurden keinerlei postoperative IGS-Prothesenverschlüsse dokumentiert, so dass eine Amputation bei lediglich 4% der

Patienten notwendig wurde. In Analogie zu den mit Rifampicin getränkten Dacronprothesen muss auch an dieser Stelle einschränkend ergänzt werden, dass Behandlungen unter Verwendung der IGS-Prothesen fast ausschließlich bei Erregern mit geringem pathogenen Potential, niedrig-gradigem Entzündungsstatus und kleinen Patientenkohorten über einen relativ kurzen Nachbeobachtungszeitraum durchgeführt wurden [86-89], was die Repräsentativität dieser Publikationen einschränkt. Um ein Auswaschen des Rifampicins oder des Silberacetats bei den vorbehandelten Kunststoffprothesen zu vermeiden, sollten alle Spülvorgänge im Rahmen des perioperativen Wunddebridements ausschließlich vor der Implantation der antiseptisch wirksamen Prothesen durchgeführt werden.

Die in der vorliegenden Arbeit verwendete Methode der Nutzung allogener Gefäßtransplantate wird ganz offensichtlich von vielen Autoren als das Verfahren der Wahl zur Behandlung der Bypassinfektionen angesehen. Als Hauptargument zu Gunsten der für Bypassoperationen grundsätzlich favorisierten *in-situ* Transplantation des allogenen arteriellen Gefäßersatzes wird eine niedrige Reinfektionsrate genannt. Der Grund für diese Resistenz trotz der teilweise ausgeprägten Infektion im alten Prothesenlager dürfte das verwendete natürliche Gewebe sein. Dass natürliches Gewebe eine gute Barriere gegen ein entzündliches Geschehen darstellt, wurde tierexperimentell in Studien mit Hunden gezeigt [90,91,92]. Aber auch klinische Studien wiesen nach, dass sich das natürliche Gewebe von Venen [93] und Arterien [27,92] als Material eignet, um eine Gefäßprotheseninfektion trotz einer schweren Entzündung periprothetischen Gewebes zu heilen. Für die natürlichen arteriellen und venösen Gewebe ließen sich zudem höhere Entzündungsresistenzen im direkten Vergleich mit dem Kunststoffmaterial erkennen [92].

Konkret zeigte sich in den großen Studien zur Verwendung der arteriellen Allografts zur Behandlung von Gefäßprotheseninfektionen eine Reinfektionsrate von 0-3% [24,33,34,38,49], die einer postoperativen Infektionsrate von Gefäßbypassanlagen in einem **nicht entzündeten** Bypassgebiet entspricht (siehe Tab. 1) und somit als sehr gut zu bewerten ist. Lediglich die autolog-venöse Bypassanlage als alternative Behandlungsmethode kann mit einer 0-5%igen Reinfektionsrate mit dieser niedrigen Rate konkurrieren (siehe oben). In der vorliegenden Studie liegt die Reinfektionsrate mit 9% unter Verwendung des allogenen arteriellen Materials ebenfalls in einem guten Bereich. Diese Bewertung gilt insbesondere unter dem Gesichtspunkt, dass die Transplantate teilweise in höchst entzündete Gefäßprothesenlager eingebaut wurden. Wie bereits erwähnt wurden im Gegensatz zu der Situation der vorliegenden Arbeit die alloplastischen antibakteriell behandelten Prothesen nur in gering kontaminierten und wenig angegriffenen Prothesenlagern verwendet. Insgesamt bestätigt ein Vergleich der

Studien einen klaren Vorteil aus der Verwendung natürlichen Gewebes zur Ausheilung von Infektionen, so dass die autolog-venöse Gefäßtransplantation oder die Transplantation arterieller Allografts bei Gefäßbypassinfektionen die besten therapeutischen Optionen darstellen.

Ein klarer Nachteil der allogenen Transplantate ergibt sich offensichtlich aus den der Allogenetität geschuldeten d.h. transplantationsimmunologisch bedingten okkludierenden Komplikationen, die Folgeeingriffe zur Wiedereröffnung der Gefäße notwendig machen. Diese treten bei 11-35% des Patientenkollektivs und somit relativ häufig auf. Zumeist können sie durch interventionelle oder operative Eingriffe behoben werden. In den schlimmsten Fällen d.h. bei 1-15% der Patienten führten sie jedoch zu einer Amputation [24,33,34,38,49]. In der vorliegenden Studie wurden bei 18% der Patienten teils mehrfach rezidivierende Thrombosierungen (insgesamt 25 Verschlüsse in allen Transplantaten) behandelt. Dennoch führte diese Komplikation nur bei vier Patienten (6% des Gesamtkollektivs) zu einer Amputation. Diese Ergebnisse entsprechen somit den Vergleichszahlen der bisherigen Studien zu allogenen Arterientransplantationen und weisen unverändert auf ein gravierendes Problem hin, das bei der autologen Venentransplantation insbesondere unter Einsatz der *Vena femoralis superficialis* nicht auftritt und bei den antibakteriell behandelten Kunststoffprothesen ebenfalls in erheblich geringerer Anzahl zu beobachten ist.

Die transplantatspezifische Ruptur stellt bei der allogenen Arterientransplantation ein eher seltenes Ereignis dar; aufgrund des häufigen letalen Ausgangs als Folge der massiven Blutung der Patienten ist sie jedoch besonders gefürchtet [24,34]. Aneurysmen kommen in den größeren Studien nur als Einzelfälle vor [24,34,49]. In der vorliegenden Studie wurden Rupturen der Transplantate während der gesamten Nachbeobachtungsphase nicht beobachtet. Lediglich ein Transplantataneurysma trat auf.

Trotz der vergleichsweise hohen Anzahl an Thrombosierungen kann die allogene Gefäßtransplantation im Kontext der diskutierten Parameter unter bestimmten Voraussetzungen, die die Patientenmorbidity betreffen, als geeignete Methode zur Behandlung von Gefäßbypassinfektionen gesehen werden. Dieser Aspekt wird im Ausblick der vorliegenden Arbeit erneut aufgegriffen werden. Dass die beobachteten okkludierenden Komplikationen eine Folge der allogenen Transplantationssituation sind und somit als Folge der manifesten HLA-spezifischen Allo-Immunsierung im Empfängerorganismus auftreten, ist naheliegend. Den Zusammenhang legt die Tatsache nahe, dass derartige thrombosierende Komplikationen bei autolog-venösen Transplantaten grundsätzlich nicht auftraten. Auch wenn statistisch aufgrund der geringen Patientenzahl nicht aussagekräftig, muss in diesem Zusammenhang doch

erwähnt werden, dass für zwei Patienten aus dem Kollektiv der vorliegenden Arbeit, die aufgrund der willkürlichen Auswahl der Transplantate zufällig komplett oder annähernd HLA-kompatibel (d.h. mit HLA-Mismatchformeln von 0-0-0 bzw. 0-1-1) transplantiert wurden, eine resultierende Immunantwort komplett ausblieb (PRA = 0%). Bis zum Ende der Beobachtungszeit d.h. über Zeiträume von jeweils 78 bzw. 29 Monaten zeigten diese Patienten eine völlig komplikationslose Transplantatfunktion. Dieser immunologische Aspekt sei in diesem Zusammenhang der klinischen Nachbeobachtung nur kurz erwähnt. Im nächsten Punkt der Diskussion (4.2.) wird er im Kontext immunologischer Fragestellungen erneut aufgegriffen werden.

## **5.2. Nachweis der gegen HLA-Antigene des Spendergefäßes gerichteten humoralen Immunantwort und resultierende Bewertung dieses schädlichen Faktors**

In der vorliegenden Arbeit wurde die humorale gegen HLA-Merkmale der jeweiligen Spendergefäße gerichtete Immunantwort detailliert d.h. sowohl quantitativ unter Angabe der kalkulierten HLA-Panelreaktivität (PRA %) als auch qualitativ durch die Angabe der jeweils nachweisbaren Antikörperspezifitäten bestimmt. Durch den Vergleich der in den Empfängerseren nachweisbaren Antikörperspezifitäten mit den HLA-Merkmalen der transplantierten Gefäße, d.h. durch die Erstellung der so genannten virtuellen Verträglichkeitsprobe (virtueller Kreuztest) wurden die Spender-Empfänger Konstellationen bestimmt, die sich durch Spender- bzw. Transplantat-spezifische anti-HLA Antikörper (= Donor-spezifische Antikörper/DSA) auszeichneten. Zur Darstellung der HLA-Inkompatibilitäten wurde für jede Spender-Empfänger Paarung die so genannte HLA A-B-DR Mismatchformel generiert und die sich jeweils aus der Berücksichtigung dieser drei Genorte ergebende Anzahl der Inkompatibilitäten (Mismatch) beziffert. Entsprechend der Anzahl dieser kalkulierten HLA-Inkompatibilitäten wurde eine Klassifizierung der Transplantationen in der Art vorgenommen, dass eine Anzahl von null (beste Konstellation) bis zu zwei Inkompatibilitäten als optimal bis gut, eine Anzahl von drei Inkompatibilitäten als mittelmäßig und eine Anzahl zwischen vier und sechs (schlechteste Konstellation) Inkompatibilitäten als schlecht bis maximal ungünstig eingestuft wurde. Angesichts der Vielzahl möglicher Kombinationen an HLA-Polymorphismen, die in einer Population auftreten, und somit in kompletter Übereinstimmung mit den erwarteten Verhältnissen zeigte sich, dass 75% der Empfänger ein arterielles Allo-Transplantat mit schlechter bis maximal schlechter HLA-Kompatibilität erhalten hatten, 16% der Empfänger ein in dieser Hinsicht mittelmäßiges Transplantat, während nur 9% der Empfänger ein

Transplantat mit optimaler bis guter HLA-Kompatibilität erhalten hatten. Diesen aus der Anzahl der Inkompatibilitäten erwachsenen Eingruppierungen entsprechend ergaben sich zunehmende durchschnittliche prozentuale Panelreaktivitäten als immunologische Antwort auf die jeweiligen Transplantate von jeweils 21% (günstige Gruppe), 56% (mittelmäßige Gruppe) und 83% (schlechte Gruppe). Für alle Patienten der Kohorte (unter Auslassung von ID 57 und unter Abzug der prä-PRA bei den ID 29 und 39) ergab sich eine eindeutig durch den Erhalt des jeweiligen Transplantates begründete Erhöhung der HLA-Alloimmunisierungsrate mit einem durchschnittlichen PRA-Wert von 71%. Der ebenso eindeutige virtuelle Nachweis Donor- bzw. Transplantat-spezifischer anti-HLA-Antikörper (DSA) konnte für 89% der durchgeführten Transplantationen erbracht werden. Die sich aus der Anzahl der Empfänger mit grundsätzlich nachweisbarer humoraler Immunreaktion (96%) und den virtuell eindeutig durch die Ausbildung von Transplantat-spezifischen Antikörpern charakterisierbaren Empfängern (89%) ergebende Differenz von drei Empfängern (7%) verfügt mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit ebenso über Transplantat-spezifische anti-HLA Antikörper. Das Problem des Nachweises liegt in diesen drei Fällen der vorliegenden Arbeit offensichtlich in bereits beschriebenen und bekannten methodischen Defiziten der verschiedenen Antikörperspezifizierungsverfahren, die eine exakte Identifizierung Spender- bzw. Transplantat-spezifischer anti-HLA Antikörper nicht immer erlauben [94, 95]. Bereits unter Beachtung dieser Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ist die arterielle Allo-Transplantation (das allogene Homograft) als hoch- bis höchstgradig immunogen zu klassifizieren. Damit ergeben sich aus den in der vorliegenden Arbeit präsentierten Daten Folgerungen, die teilweise bereits als Folgerungen vorangehender Untersuchungen formuliert wurden, auch wenn deren Anzahl im Vergleich zu analogen Untersuchungen über Allo-Transplantationen solider Organen nur gering ist und die entsprechenden Publikationen teilweise in die mittleren bis späten 1990er Jahre zurückgehen.

Als Folge von allogenen Aortensegmenttransplantationen wurde bereits 1998 von HLA-Antigen -spezifischen Immunisierungen berichtet, aus denen innerhalb eines Zeitraumes von 3-12 Monaten eine Panelreaktivität resultierte, die in Abhängigkeit von dem verwendeten Nachweisverfahren zwischen 45% und 50% lag [96]. Im Vergleich zu den der vorliegenden Arbeit verwendeten moderneren Antikörperspezifizierungsverfahren [DynaChip- und Luminex-Single Donor (ID) Analyse] dürften aus den durch Mirelli und Mitarbeiter seinerzeit verwendeten Verfahren „PRA-STAT ELISA“ und insbesondere aus der „Lymphozytotoxizitätstest-basierenden Zellplattenanalyse“ aufgrund der geringeren Sensitivität grundsätzlich auch geringere PRA-Werte resultieren. Alle den Untersuchungen der italienischen Arbeitsgruppe zugrunde

liegenden Patienten (n=5) zeigten vor der Transplantation des willkürlich ausgewählten Aortensegmentes keine Antikörper (PRA=0%). Zusätzlich zu Transplantat-spezifischen Antikörpern, die die Autoren in 4/5 Patienten virtuell nachweisen konnten, beschrieben sie einen über 90 Tage verlaufenden zahlenmäßigen Anstieg der T-Zellen (insbesondere der CD4-positiven T-Helfer Zellen), eine progrediente Verdickung der Aortenwand und eine Verengung des Gefäßlumens in den ersten 6 Monaten nach der Transplantation. Die Autoren folgerten, dass in Übereinstimmung mit einer drei Jahre zuvor erschienenen Publikation zu Aortentransplantationen in einem Rattenmodell [97] aortale Allo-Transplantate als „biologisch aktives Gewebe und nicht als implantiertes Gefäß mit ausschließlich mechanischer Funktion“ zu betrachten seien, um der allogenen Transplantationssituation geschuldete entzündliche Rejektionsprozesse adäquat berücksichtigen zu können. Bereits in ihrer Publikation aus dem Jahr 1998 schlugen die Autoren um Mirelli vor, die Antigenität der arteriellen Allotransplantate entweder durch die Verwendung HLA-kompatibler Gefäße oder durch nicht weiter spezifizierte Gewebeoberflächenmanipulationen herabzusetzen. Ferner wird empfohlen, die resultierende Immunantwort durch eine nachfolgende Immunsuppression zu unterdrücken. Der in den 1990er Jahren noch weit verbreiteten Ansicht, dass eine Kryokonservierung die Antigenität der transplantierten Gefäße herabsetzt, erteilten die Autoren der Bologneser Studie aus dem Jahr 1998 in zwei weiteren Publikationen aus den Jahren 2005 und 2007 [43,98] jedoch eine klare Absage. Pasquinelli und Mitarbeiter zeigten in ihrer immunhistochemischen „*in situ*“ Studie unter Verwendung frischer und kryokonservierter arterieller Gefäße, dass sich beide Formen in ihrer Immunogenität entsprechen. Die immunhistochemisch durch Verwendung eines pan-HLA Antigen-spezifischen monoklonalen Antikörpers darstellbaren HLA-Klasse I Antigene unterschieden sich mit der Ausnahme einer auf die Kryokonservierung zurückgehenden reduzierten Darstellung auf der luminalen Seite der *Tunica intima* in keiner Weise. Die Autoren führten diese Reduktion auf den kryokonservativen Verlust der Endothelzellen zurück. Sowohl die glatten Muskelzellen der *Tunica media* als auch das *Vasa vasorum*-Netzwerk der *Tunica externa (Adventitia)* frischer und kryokonservierter Gefäße exprimierten HLA-Klasse I Antigene jedoch in nicht unterscheidbarer Weise. Plausibel erklärt sich somit die Feststellung, dass die Verwendung kryokonservierter arterieller Gefäßtransplantate sowohl in der nachfolgend erwähnten Arbeit von Mirelli und Mitarbeitern [96] als auch in der vorliegenden Arbeit zu keinem Rückgang der Immunantwort führte.

Die immunologischen Beobachtungen und Erkenntnisse der initialen Publikation aus dem Jahr 1998 wurden in nachfolgenden Publikation von Mirelli und Mitarbeitern aus dem Jahr 2005 durch eine größere Patientenkohorte (n=30) grundsätzlich bestätigt,

auch wenn einige der Untersuchungen zur Darstellung zeitlicher Abläufe der allogenen Immunreaktionen etwas differenzierter durchgeführt wurden. Erneut waren in der erweiterten Kohorte (2005) keine Patienten mit einer bereits zuvor angelegten HLA-spezifischen Immunisierung vorhanden, so dass sich alle Patienten durch eine initiale PRA von 0% auszeichneten. Postoperativ trat ein erster Anstieg der Panelreaktivität nach etwa einem Monat auf, wobei die LZT-abhängige Zellplattenanalyse eher Antikörper nachwies als der PRA-STAT ELISA. Dieses immunologisch plausible Phänomen ist darauf zurückzuführen, dass die immunologische Primärantwort vorwiegend durch Antikörper des IgM-Isotyps gekennzeichnet ist, die im PRA-STAT ELISA nicht erkannt wurden, da dieser ausschließlich anti-HLA Antikörper der IgG-Subisotypen nachwies. Die LZT-abhängige Zellplattenanalyse wies hingegen die zytotoxischen IgG-Subisotypen IgG1 und IgG3 sowie den ebenfalls zytotoxischen IgM-Isotypen nach, da diese Antikörper in der Lage sind, als Effektorfunktion das Komplementsystem über den klassischen Aktivierungsweg zu initiieren. Dieser Einschub sei zur Erklärung des früheren Anstiegs der PRA in der LZT-abhängigen Zellplattenanalyse eingefügt. Nach etwa einem Jahr stellte sich ein mit den Daten der vorliegenden Arbeit gut korrespondierender durchschnittlicher PRA-Wert zwischen 65% und 80% ein, der auf diesem hohen Niveau über den gesamten postoperativen Beobachtungszeitraum von 60 Monaten verharrte. Sämtliche der 30 Patienten entwickelten virtuell nachweisbare Transplantat-spezifische Antikörper. Aus der Verwendung von frischen (n=23) oder kryokonservierten (n=7) Transplantaten ergaben sich jedoch keinerlei Unterschiede hinsichtlich der Bildungskinetik, der Höhe des PRA-Wertes und des virtuellen Nachweises Transplantat-spezifischer Antikörper. Damit entsprechen die in beiden Publikationen (1998 und 2005) erhobenen Daten zur humoralen HLA-spezifischen Immunantwort in hohem Maße und auf absolut plausible Weise den Daten der vorliegenden Arbeit. Zusätzlich beschrieben die Autoren in ihrer Publikation aus dem Jahr 2005 eine initiale vorwiegend lymphozytotoxische zelluläre Immunreaktion, nachweisbar bereits drei Tage nach der Transplantation, die von der nachfolgenden bereits erwähnten humoralen (d.h. Antikörper-vermittelten) Immunreaktion nach etwa einem Monat in der dominierenden Rolle abgelöst wird. Beide Reaktionsmuster wurden den bis heute gängigen immunologischen Kenntnissen entsprechend als eng verknüpft beschrieben. Für vier Patienten wiesen die Autoren um Mirelli (2005) iliakale obstruktive Gefäßverschlüsse als Komplikationen nach, die nach zwei Jahren zu beobachten waren und die sie auf chronische Abstoßungspathologien zurückführten. Diese konnten in drei Fällen durch perkutane transluminale Angioplastie mit Stentanlage geheilt werden. Lediglich einen Todesfall gaben die Autoren als Folge einer Aneurysmenruptur an; weitere drei Todesfälle wurden als nicht mit der

Transplantation in Verbindung stehend beschrieben. Interessanter Weise gehörten alle vier der durch chronische Rejektionsphänomene gekennzeichneten und entsprechend operativ erfolgreich behandelten Patienten zu der Patientengruppe (n=10), die im Gegensatz zu einer zweiten Gruppe (n=20, ohne jegliche immunsuppressive Therapie) mit Cyclosporin unter Aufrechterhaltung einer Konzentration von 100-200 µg/ml Serum therapiert wurde. Obwohl aus dieser Behandlung ein gegenüber der unbehandelten Gruppe verringerter anti-HLA Immunisierungsgrad von nicht mehr als 40% PRA resultierte (vgl. 65-80% PRA in der nicht supprimierten Gruppe) zeigte sich gerade kein verbesserter klinischer Verlauf dieser Transplantate und somit eine offensichtliche klinische Unwirksamkeit der vorgenommenen Immunsuppression. Auch wenn eine andere immunsuppressive Therapie für das Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit (Tacrolimus oder Sirolimus mit jeweils 5ng/ml Serum) gewählt wurde, ergab sich für die allogene ungünstige Konstellation ( $\geq 4$  Inkompatibilitäten) ein durchweg sehr hoher und folglich kaum mehr zu steigernder Immunisierungsgrad von durchschnittlich 83% PRA. Ein derart hoher „Maximalwert“ kann ebenfalls nicht als Hinweis auf die Wirksamkeit der vorgenommenen Immunsuppression zur Eindämmung der alloreaktiven humoralen Immunantwort gewertet werden. Es sei an dieser Stelle jedoch erwähnt, dass eine nicht immunsupprimierte Patientenkohorte als Kontrollgruppe in der vorliegenden Arbeit nicht existierte, so dass der trotz genereller Immunsuppression stets nachweisbare sehr hohe PRA-Wert allenfalls als schwaches Indiz für die Unwirksamkeit der vorgenommenen Immunsuppression gelten kann.

Gegensätzlich dazu zeigten sich die Ergebnisse einer polnischen Arbeitsgruppe aus dem Jahr 2004 [99]. Im Gegensatz zu der aufgeführten Publikation der Bologneser Arbeitsgruppe konnten Pupka und Mitarbeiter einen deutlichen positiven Effekt aus der Behandlung mit Cyclosporin ableiten. Die Gruppe behandelter Patienten (n=16) zeigte weder behandlungsbedürftige Komplikationen noch pathologische Veränderungen der Gefäßwand, die allerdings nicht weiter spezifiziert wurden. Dagegen zeigten acht Patienten aus der Kontrollgruppe ohne Cyclosporin-Behandlung (n=13) erhebliche Komplikationen wie Gefäßrupturen (n=3), Aneurysmen (n=2) und Transplantatthrombosen (n=3). Die aufgezeigten gravierenden Unterschiede zum Nutzen oder Unsinn einer Immunsuppression zur Aufrechterhaltung der Funktion arterieller Gefäßtransplantate können an dieser Stelle letztlich nicht geklärt werden.

Den oben aufgeführten Publikationen wurde in der Diskussion der vorliegenden Arbeit ein relativ großer Raum gegeben, da sie trotz ihres fortgeschrittenen Alters die immunologische Problematik von arteriellen Gefäßtransplantationen methodisch umfassend aufgriffen. Derartige Publikationen unter der Aufführung immunologisch sinnvoller experimenteller Ansätze sind in der jüngeren Vergangenheit für arterielle

Allotransplantate nicht mehr zu finden. Es sei noch erwähnt, dass diese Publikationen, deren Erkenntnisse sich mit denen der vorliegenden Arbeit in höchstem Maße decken, im HLA-Labor am Universitätsklinikum Halle zum Zeitpunkt der Datenerhebung dieser Arbeit nicht bekannt waren. Umso plausibler lassen sie die immunologische Datenerhebung und die Schlussfolgerungen der vorliegenden Arbeit erscheinen.

Während zusätzliche Publikationen allogenen transplantierten venösen [100] und arteriellen Gefäße [101], die ebenfalls bereits aus den 1990er Jahren stammen, die Allogenität transplantierten Gefäße als dominierendes Transplantationshindernis beschreiben, scheint die Zeit ab 2005 eher durch eine Verdrängung dieses Problems charakterisiert zu sein. So führte insbesondere die Unterschlagung von Histokompatibilitätsdaten in der Publikation von Pupka und Mitarbeitern [89] zu einer Gegendarstellung als „Letter to the Editor/Correspondence“, in welchem die Autoren [102] fordern, die unterschlagenen immunologischen Daten zur Kompatibilität der ABO-Blutgruppenmerkmale, insbesondere aber der HLA-Merkmale zu ergänzen und zu berücksichtigen. Dieser berechtigten Forderung wird insbesondere durch die detaillierten immunologischen Daten der vorliegenden Arbeit in vollem Umfang entsprochen.

### **5.3. Beurteilung der postoperativen histologischen Veränderungen allogenen transplantierten arteriellen Gefäße vor dem Hintergrund der massiven humoralen Immunantwort**

Die den verschiedenen soliden Organen zugrunde liegenden histologischen Abstoßungsmechanismen manifestieren sich vielfältig, zeigen aber die Gemeinsamkeit, dass sich mit der Verlängerung des postoperativen Zeitraums die Gefahr einer obliterativen Arteriopathie der kleinen innergeweblichen Gefäße, die zu einer Transplantatabstoßung führen kann, ansteigt [103]. Dies wurde an Transplantaten von Niere [104], Leber [103] und Herz [105] nachgewiesen. Beim Herzen wurde diese nach der Transplantation auftretende Obliteration von arteriellen Gefäßen auch an den großlumigeren Herzkranzgefäßen beobachtet. Das entsprechende Krankheitsbild, *Transplantations-bedingte koronare Herzkrankheit* (engl. TRCAD, Transplant Related Coronary Artery Disease) genannt, führt in vielen Fällen zur Abstoßung des Organes. Dabei tritt die „TRCAD“ bekanntermaßen häufig begleitend zu einer nachweisbaren Transplantat- oder Donor-spezifischen anti-HLA Antikörperbildung im Empfängerorganismus auf, so dass die Antikörperbildung als ursächlich angesehen wird [106-108]. Allerdings wurden nicht nur obliterative, sondern auch degenerative Veränderungen bei arteriellen Allografts nach der Implantation

nachgewiesen. Derartige Veränderungen wurden schon früh tierexperimentell in Versuchen mit Ratten beobachtet [109-111]; sie wurden aber ebenso bereits im Jahr 1970 d.h. in einer frühen Studie mit arteriellen menschlichen „Homografts“ dokumentiert [112]. Beide beschriebenen Veränderungen, d.h. sowohl die okkludierende intimale Hyperplasie als auch die degenerativen Veränderungen mit transmuraler Kollagenisierung können potentiell zu einem Gefäßversagen durch finale Verschlüsse, Aneurysmen oder Rupturen führen. Gerade die Gefäßverschlüsse stellen zahlenmäßig offensichtlich die Komplikationsform dar, über die humorale Abstoßungsreaktionen klinisch hauptsächlich in Erscheinung treten [33,34,38,43,96]. Auch wenn die degenerative Veränderung bei der konventionellen (d.h. altersbedingten bzw. Risikofaktor-abhängigen) Arteriosklerose fokal und unregelmäßig auftritt [113] und die auf einer Abstoßungsreaktion basierende Degeneration generalisiert und konzentrisch in Erscheinung tritt [114], stellt sich eine anhand punktueller Biopsien vorgenommene Differenzierung beider Formen sehr schwierig dar. Für das Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit ist eine konventionelle (d.h. Risikofaktor-abhängige) Arteriosklerose als Ursache für eine Fibrosierung transplanteder Gefäße aber dennoch nahezu ausgeschlossen, weil die beschriebenen degenerativen Veränderungen bereits zu einem frühen Zeitpunkt nach der Transplantation auftraten. Die Zeitpunkte der Untersuchungen weisen somit auf ein pathologisches Bild hin, dass seine Ursache mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht in der zeitlich mit erheblich größerer Verzögerung anzutreffenden konventionellen Arteriosklerose haben kann. So ließen sich deutliche transplantationsabhängige histopathologische Degenerationserscheinungen in der Literatur durchweg bereits zwei Jahre nach der Transplantation der allogenen Arterien beobachten [43,49]. Signifikante allogenen-pathologische Zunahmen in der Stärke der Aortenwände waren für einige Patienten bereits nach sechs Monaten nachweisbar [96]. Analog waren für ein Fallbeispiel in der vorliegenden Studie [ID 64] ein „auffälliges lymphozytäres Entzündungsinfiltrat und hochgradig fibrosierte Gefäßwandanteile“ bereits sechs Monate nach der Transplantation nachweisbar. Da dieses Gefäß bei der Voruntersuchung jedoch nur leichte degenerative Veränderungen aufwies und nach der nur kurzen postoperativen Zeit von sechs Monaten eine ausgeprägte lumenstenosierende Kollagenisierung aller Gefäßwände mit einem dadurch bedingten thrombotischen Verschluss bildete, ist hierfür ein anderer Mechanismus als die konventionelle Arteriosklerose zu postulieren. Abschließend bleibt zu erwähnen, dass alle neun Transplantate dieser Studie, die später als sechs Monate nach ihrer Implantation mikroskopisch untersucht wurden, diesen deutlichen Progress der Degeneration aufwiesen. Die mikroskopisch-histologischen Untersuchungen erfolgten durchschnittlich 32 Monate nach der

Transplantation (7-70 Monate) und zeigten deutlich, dass sich die Patientenkohorte der vorliegenden Arbeit histopathologisch, d.h. in der beschriebenen Abstoßungsphänomenologie den wenigen vorausgehenden Studien anschließt, auch wenn diese in ihrer Anzahl überschaubar sind [24,34,39,96,97,100,101]. Insgesamt wären plausible, bisher völlig unbekannte Ursachen zu postulieren, um den Zusammenhang zwischen allogenen Abstoßungsmechanismen und der postoperativen Sklerosierung eines transplantierten arteriellen Gefäßes noch in Frage zu stellen.

#### **5.4. Ausblick**

In der vorliegenden Arbeit wurde anhand von 68 transplantierten allogenen arteriellen Gefäßen (67 Patienten) gezeigt, dass diese Methode therapeutisch zur Behandlung einer Gefäßprotheseninfektion d.h. zur Heilung der infektiösen Grunderkrankung grundsätzlich geeignet ist. Bei vorwiegender erheblicher HLA-Inkompatibilität zwischen Spendern und Empfängern wurde allerdings auch der Nachweis erbracht, dass das arterielle Transplantat im Empfängerorganismus eine massive humorale Immunantwort auslöst. Diese ließ sich über die Bestimmung Transplantat-spezifischer anti-HLA Antikörper im Serum nachweisen. Mikroskopisch wurde bei den neun Transplantaten, die mikroskopisch-histologisch auf Abstoßungsmechanismen untersucht wurden, neben einer akuten zellulären auch eine chronische humorale Abstoßungsreaktion im Gewebe beobachtet, die sich durch eine beschleunigte Degeneration mit Fibrosierung der Gefäßwände auszeichnete. Es ist somit äußerst wahrscheinlich, dass Abstoßungsphänomene wie die Thrombosierung, die 18% der Patienten betrifft und somit die Hauptkomplikation dieses Eingriffs repräsentiert, aus der HLA-Inkompatibilität resultierenden. Derartige Vorgänge sind z.B. bei der Verwendung der autolog transplantierten *Vena femoralis superficialis* so gut wie gar nicht zu beobachten.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit legen folglich nahe, dass eine gute HLA-Kompatibilität von Spendergefäß und Empfänger eine allo-spezifische Immunantwort reduzieren bzw. komplett umgehen und somit die beobachteten Abstoßungsreaktionen minimieren oder gar verhindern kann. Als zukünftige aus der vorliegenden Arbeit erwachsende Aufgabe ergibt sich fast zwangsläufig die Aufstellung einer Studienkohorte, bei der in gleicher Weise HLA-kompatible und -inkompatible allogene Gefäße transplantiert werden. Der direkte Vergleich ließe erstmalig direkte Rückschlüsse auf die Relevanz der HLA-Kompatibilität bei diesen „Gefäßallografts“ zu. Bereits in der vorliegenden Arbeit zeigten 4 von 44 diesbezüglich untersuchten Transplantaten zufälligerweise eine gute bis sehr gute Kompatibilität mit dem Empfänger. Bei allen vier Patienten, die diese Transplantate erhalten hatten, wurde ein völlig komplikationsloser klinischer Verlauf von durchschnittlich 42 Monaten

beobachtet. Aufgrund dieser geringen Patientenzahl (n=4) d.h. des Fehlens einer entsprechenden Kontrollkohorte mit HLA-kompatiblen Gefäßtransplantaten sind die Transplantationsresultate der vorliegenden Arbeit und historischer Arbeiten aber lediglich als Hinweis auf die diesbezügliche Transplantationsrelevanz der HLA-Kompatibilität zu werten. Ein Beweis wäre durch eine mit kompatiblen HLA-Merkmalen zu transplantierende Kontrollgruppe und den entsprechenden Analysen der Transplantatverläufe noch zu erbringen.

Die Tatsache, dass aufgrund einer Änderung der Gesetzgebung zum derzeitigen Zeitpunkt fast ausschließlich kryokonservierte Transplantate für die allogene Arterientransplantation verwendet werden, dürfte die Vorgehensweise einer HLA-kompatiblen Gefäßtransplantation in hohem Maße begünstigen. Der politische Wille und die finanziellen Mittel vorausgesetzt, ist es durchaus denkbar, zukünftig umfängliche Gefäßspender-Kryobanken zu entwickeln und zu unterhalten, um eine flächendeckende Versorgung potentieller Empfänger mit HLA-kompatiblen Spendergefäßen gewährleisten zu können.

## 6. Zusammenfassung

Eine Gefäßprotheseninfektion stellt bis heute ein lebensbedrohliches Krankheitsbild dar und ist bei gefäßchirurgischen Eingriffen aufgrund der hohen Amputations- und Mortalitätsrate sehr gefürchtet. Ein standardisiertes Therapieschema existiert derzeit nicht, so dass in den Leitlinien als Optionen zur Behandlung die i) autologe Venentransplantation, ii) der extra-anatomische Bypass, iii) antibakteriell wirksame Gefäßprothesen (Antibiotikum-getränkt oder mit Silber beschichtet) und iv) die allogene Arterientransplantation aufgeführt werden. Da das benötigte autologe Venenmaterial bei vielen Patienten nicht zur Verfügung steht, der extra-anatomische Bypass von erheblichen klinischen Komplikationen begleitet ist, die Studienlage zu den antibakteriellen Prothesen dürftig ist, so dass diese vorwiegend bei gering-gradigen Bypassinfektionen verwendet werden, wurde in dieser Studie der als etabliert geltende Einsatz von allogenen Arterientransplantaten gewählt, um die teilweise schwer infizierten Prothesenlager mit dem natürlichen Fremdgewebe (Allo-Transplantat) zu kurieren.

Zwischen November 2000 und Dezember 2009 wurden am Universitätsklinikum Leipzig 67 Patienten mit der Indikation „Gefäßbypassentzündung“ mit allogenen arteriellen Gefäßen transplantiert, wobei sowohl frische als auch kryokonservierte Arterientransplantate verwendet wurden. Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit bestand zunächst darin, die in 68 Fällen durchgeführte allogene arterielle Gefäßtransplantation (ein Patient erhielt zeitgleich zwei Transplantate von jeweils verschiedenen Spendern) hinsichtlich ihrer therapeutischen Effizienz zur Heilung der Grunderkrankung „Gefäßbypassinfektion“ zu evaluieren. Mit einer Heilungsrate der Grunderkrankung von 84%, einer durch die Grunderkrankung bedingten Amputationsrate von 13% und einer Reinfektionsrate von nur 9% war die Methode insbesondere vor dem Hintergrund des Schweregrades der behandelten Infektionen als durchaus erfolgreich zu betrachten. Allerdings trat mit einer Rate von 18% eine Thrombosierung des arteriellen Allo-Transplantates als häufigste Komplikation auf.

Um mögliche humorale Abstoßungsreaktionen gegen die bezüglich ihrer HLA-Kompatibilität willkürlich ausgesuchten arteriellen „Allografts“ im Empfängerorganismus zu überprüfen, wurden von 44 Gefäßempfängern die prä- und postoperativen Serumproben mittels Dynachip™ HLA Antibody- bzw. Luminex100™ IS-Analyse auf anti-HLA-Klasse I und II Antikörper untersucht. Die bei diesen Untersuchungen in 96% der Patienten nachgewiesenen anti-HLA Antikörper wurden mit den typisierten HLA-Merkmalen/-Allelen der Spendergefäße verglichen (virtuelle Verträglichkeitsprobe), um bei 89% der Patienten eine Spender-spezifische Immunreaktion gegen die Gefäßtransplantate nachzuweisen. Aus dem Vergleich der HLA-Typisierungsdaten von

Spendern und Empfängern wurde im Anschluss für jede Spender-/Empfängerpaarung die so genannte HLA A-B-DR-Mismatchformel abgeleitet, um einen Überblick über die jeweiligen HLA-Kompatibilitäten der Spendergefäß-/ Empfängerpaare zu erhalten. Eine Stratifikation der abgeleiteten Mismatchformeln ergab, dass den Erwartungen entsprechend 75% der Patienten mit schlechten (4 bis 6 von 6 möglichen Inkompatibilitäten), 16% mit einem mittelmäßigen Kompatibilitätsgrad (3 von 6 möglichen Inkompatibilitäten) und nur 9% der Patienten mit einem guten Kompatibilitätsgrad (0 bis 2 von 6 möglichen Inkompatibilitäten) transplantiert worden waren. Für die als Maß der humoralen Allo-Immunisierung gegen HLA-Merkmale bestimmte HLA-Panelreaktivität ergab sich je Transplantat und Empfänger eine massive durchschnittliche Erhöhung um 71%.

Zusätzlich wurden im Rahmen von Komplikationen wie Thrombendarteriektomien, Aneurysmaresektionen oder Amputationen insgesamt 15 Gewebeproben der implantierten arteriellen Gefäße entnommen, von denen neun mikroskopisch auf eine aus den anti-HLA Immunreaktionen resultierende Abstoßungspathologie untersucht wurden. Sechs Transplantatbiopsien eigneten sich aufgrund einer starken persistierenden Infektion im Prothesenlager nicht für diese Untersuchungen.

Die nachgewiesene massive Transplantat-spezifische humorale Immunantwort führte bei den großlumigen aortal, iliakal und femoral transplantierten Gefäßen nicht zu den fatalen akuten Abstoßungsphänomenen mit resultierendem Funktionsverlust wie sie bei der Transplantation solider Organe gelegentlich auftreten. Allerdings waren im Langzeitverlauf mit dem pathologischen Bild einer ausgeprägten transmuralen Kollagenisierung und Fibrosierung im Sinne einer regressiven Gefäßdegeneration chronische Abstoßungsprozesse der Arterientransplantate zu beobachten.

Erstmalig wurde in der vorliegenden Arbeit gezeigt, dass durch die Verwendung eines weitgehend oder vollständig HLA-inkompatiblen Gefäßtransplantates aufgrund der nachfolgenden HLA-Alloimmunisierung massive Einschränkungen hinsichtlich der Auswahl eines geeigneten Spenderorganes für eine gegebenenfalls anstehende Folgetransplantation zum Erhalt eines soliden Organes zu erwarten sind. Eine zusätzliche Einschränkung ergibt sich aus den mittelfristigen fibrotisch-degenerativen Gefäßveränderungen, so dass für die Therapieoption allogene transplantierte arterielle Gefäße grundsätzliche Eignungskriterien für die Patienten entwickelt werden sollten.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Geffers C, Gastmeier P, Rüden H (2000) Nosokomiale Infektionen, Robert Koch Institut, GesundheitBerichterstattung des Bundes, Heft 8: 1-17.
2. Exton RJ, Galland RB (2007) Major Groin Complications Following The Use of Synthetic Grafts. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 34: 188-190.
3. Yeager RA, Porter JM (1992) Arterial and Prosthetic Graft Infection. *Ann Vasc Surg* 6: 485-491.
4. Szilagy DE, Smith RF, Elliott JP, Vrandecic MP (1972) Infection in Arterial Reconstruction with Synthetic Grafts. *Ann Surg* 176: 321-332.
5. Zühlke HV und Harnöß BM: Septische Gefäßchirurgie. Überreuther Wissenschaft Verlag, Wien, 1988.
6. Nationales Referenzzentrum für Surveillance von nosokomialen Infektionen (2011) Modul OP-KISS (Surveillance für postoperative Wundinfektionen). Anlage zum OP-KISS-Protokoll: Beschreibung der Indikator-OP-Arten: S.1-2.
7. Oldhafer K, Jürs U, Kramer A, Martius J, Weist K., Mielke M (2007) Prävention postoperativer Infektionen im Operationsgebiet: Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut. *GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär* 2: S. 1-19.
8. Vollmar J und Buettner-Ristow A (1976) Diagnostik und Klinik septischer Komplikationen in der Gefäßchirurgie. *Langenbecks Arch. Chir.* 342 (Kongreßbericht 1976): 505-509.
9. Teebken OE, Bisdas T, Assadian O, Ricco JB (2012) Recommendations for Reporting Treatment of Aortic Graft Infections. *Eur Vasc Endovasc Surg* 43: 174-81.
10. Kujath P, Scheele J (2006) Auftreten und Virulenzfaktoren bakterieller Erreger bei Gefäßinfektionen. *Gefäßchirurgie* 11: 393-401.
11. Zegelmann M, Guenther G, Eckstein HH, Kreißler-Haag D, Langenscheidt P, Mickley V, Ritter R, Schmitz-Rixen T, Wagner R, Zühlke H (2006) In-situ-Rekonstruktion mit alloplastischen Prothesen beim Gefäßinfekt. *Gefäßchirurgie* 11: 402-408.
12. Mertens RA, O'Hara PJ, Hertzner NR, Krajewski LP, Beven EG (1995) Surgical management of infrainguinal arterial prosthetic graft infections: Review of a thirty-five-year experience. *J Vasc Surg* 21: 782-791.
13. Mirzaie M, Schmitto JD, Tirlomis T, Fatehpur S, Liakopoulos OJ, Teucher N, Dörge H, Schöndube FA (2007) Surgical Management of Vascular Graft Infection in Severely Ill Patients by Partial Resection of the Infected Prosthesis. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 33: 610-613.

14. Fitzgerald SF, Kelly C, Humphreys H (2005) Diagnosis and treatment of prosthetic aortic graft infections: confusion and inconsistency in the absence of evidence and consensus. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 56: 996-999.
15. Diehm C, Lawall H (2009) Deutsche Gesellschaft für Angiologie, Gesellschaft für Gefäßmedizin. Deutsche Leitlinie zur Diagnostik und Therapie der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (PAVK), Methodenreport S3-Leitlinie PAVK 2009. AWMF Register Nr. 065/003.
16. Zegelmann M, Günther G, Freytag C, Zühlke H, Storck M (2008) Deutsche Gesellschaft für Gefäßchirurgie und Gefäßmedizin, Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Gefäßchirurgie (vaskuläre und endovaskuläre Chirurgie) (DGG), Leitlinie Gefäßinfektionen: 1-13.
17. Hirsch JAT, Haskal ZJ, Hertzner NR, Bakal CW, Creager MA, Halperin JL, Hiratzka LF, Murphy WRC, Jeffrey W, Olin JW, Puschett B, Rosenfield KA, Sacks D, Stanley JC, Taylor LM, White CJ, White J, White RA (2006) ACC/AHA 2005 Practice Guidelines for the Management of Patients With Peripheral Arterial Disease (Lower Extremity, Renal Mesenteric, and Abdominal Aortic). *Circulation* 113: 463-654.
18. Yeager RA, Taylor LM, Moneta GL, Edwards JM, Nicoloff AD, McConell DB, Porter JM (1999) Improved results with conventional management of infrarenal aortic infection. *J Vasc Surg* 30: 76-83.
19. Schweiger H, Amendt K, Rümenapf G (2008) Deutsche Gesellschaft für Gefäßchirurgie und Gefäßmedizin, Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Gefäßchirurgie (vaskuläre und endovaskuläre Chirurgie) (DGG), Leitlinie zur amputationsbedrohten Extremität: 1-7.
20. Goeau-Brissonniere O, Leport C, Bacourt F, Lebrault C, Comte R, Pechère JC (1991) Prevention of Vascular Graft Infection by Rifampicin Bonding to a Gelatin-Sealed Dacron Graft. *Ann Vasc Surg* 5: 408-412.
21. Clagett GP, Valentine RJ, Hagino RT (1997) Autogenous aortoiliac/femoral reconstruction from superficial-popliteal veins: Feasibility and durability. *J Vasc Surg* 25: 255-270.
22. Vollmar J: *Rekonstruktive Chirurgie der Arterien*. 3. überarbeitete und erweiterte Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York, 1982, S. 535-570.
23. Bahnini A, Ruotolo C, Koskas F, Kieffer E (1991) In situ fresh allograft replacement of an infected aortic prosthetic graft: 18-month follow-up. *J Vasc Surg* 14: 98-102.

24. Kieffer E, Gomes D, Chiche L, Fléron MH, Koskas F, Bahnini A (2004) Allograft replacement for infrarenal aortic graft infection: Early and late results in 179 patients. *J Vasc Surg.* 39: 1009-1017.
25. Kniemeyer HW, Torsello G, Hennes N, Grabitz K, Sandmann W (1994) Fresh homologous arterial transplant as aorto-iliac-femoral vascular replacement in prosthesis infection. *Vasa* 23: 286-273.
26. da Gama AD, Sarmento C, Vieira T, do Carmo GX (1994) The use of arterial allografts for vascular reconstruction in patients receiving immunosuppression for organ transplantation. *J Vasc Surg* 20: 271-278.
27. Desgranges P, Beaujan F, Brunet S, Cavillon A, Qvarfordt P, Mellièrè D, Becquemin JP (1998) Cryopreserved Arterial Allografts Used for the Treatment of Infected Vascular Grafts. *Ann Vasc Surg* 12: 583-588.
28. Gournier JP, Favre JP, Gay JL, Barral X (1995) Cryopreserved Arterial Allografts for Limb Salvage in the Absence of Suitable Saphenous Vein: Two-Year Results in 20 Cases. *Ann Vasc Surg* 9, Suppl. 7-14.
29. Locati P, Novali C, Socrate AM, Constantini E, Morlacchi E, Piazzalunga G, Constantini S (1998) The use of arterial allografts in aortic graft infections. A three year experience on eighteen patients. *J Cardiovasc Surg* 39: 735-741.
30. Eugène M, Gerota J (1998) Cryopreserved aortic allograft replacement of infected prosthetic grafts in man: processing and clinical results. *Transpl Int* 11, Suppl.1: 452-454.
31. Vogt PR, Brunner-La Rocca HP, Carrel T, von Segesser LK, Ruef C, Debatin J, Seifert B, Kiowski W, Turina MI (1998) Cryopreserved arterial allografts in the treatment of major vascular infection: a comparison with conventional surgical techniques. *J Thorac Cardiovasc Surg* 116: 965-972.
32. Alonso M, Segura RJ, Prada C, Caeiro S, Cachaldora JA, Diaz E, Luján S, Cal L, Vidal J (1999) Cryopreserved Arterial Homografts: Preliminary Results in Infrageniculate Arterial Reconstructions. *Ann Vasc Surg* 13: 261-267.
33. Verhelst R, Lacroix V, Vraux H, Lavigne JP, Vandamme H, Limet R, Nevelsteen A, Bellens B, Vasseur MA, Wozniak B, Goffin Y (2000) Use of Cryopreserved Arterial Homografts for Management of Infected Prosthetic Grafts: A Multicentric Study. *Ann Vasc Surg* 14: 602-607.
34. Albertini JN, Barral X, Branchereau A, Favre JP, Guidicelli H, Magne JL, Magnan PE (2000) Long-term results of arterial allograft below-knee bypass grafts for limb salvage: A retrospective multicenter study. *J Vasc Surg* 31: 426-435.

35. Lesèche G, Castier Y, Petit MD, Bertrand P, Kitzis M, Mussot S, Besnard M, Cerceau O (2001) Long-term results of cryopreserved arterial allograft reconstruction in infected prosthetic grafts and mycotic aneurysms of the abdominal aorta. *J Vasc Surg* 34: 616-622.
36. Prager M, Hölzenbein T, Aslim E, Domenig Ch, Mühlbacher F, Kretschmer G (2002) Fresh Arterial Homograft Transplantation : A Novel Concept for Critical Limb Ischaemia. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 24: 314-321.
37. Noel AA, Gloviczki P, Cherry KJ, Safi H, Goldstone J, Morasch MD, Johansen KH (2002) Abdominal aortic reconstruction in infected fields: Early results of the United States Cryopreserved Aortic Allograft Registry. *J Vasc Surg* 35: 847-852.
38. Chiesa R, Astore D, Frigerio S, Garriboli L, Piccolo G, Castellano R, Scalamogna M, Odero A, Pirelli S, Biasi G, Mingazzini P, Biglioli P, Polvani G, Guarino A, Agrifoglio G, Tori A, Spina G (2002) Vascular prosthetic graft infection: Epidemiology, Bacteriology, Pathogenesis and Treatment. *Acta chir belg.* 102: 238-247.
39. Gabriel M, Pukacki F, Dzieciuchowicz L, Oszkini G, Checinski P (2004) Cryopreserved Arterial Allografts in the Treatment of Prosthetic Graft Infections. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 27: 590-596.
40. Kitamura T, Morota T, Motomura N, Ono M, Shibata K, Ueno K, Kotsuka Y, Takamoto S (2005) Management of Infected Grafts and Aneurysms of the Aorta. *Ann Vasc Surg* 19: 1-8.
41. Castier Y, Francis F, Cerceau P, Besnard M, Albertin J, Fouilhe L, Cerceau O, Albaladejo P, Lesèche G (2005) Cryopreserved arterial allograft reconstruction for peripheral graft infection. *J Vasc Surg*: 41: 30-37.
42. Pirrelli S, Arici V, Bozzani A, Odero A (2005) Aortic graft infections: treatment with arterial allograft. *Transplant Proc.* 37: 2694-2696.
43. Mirelli M, Buzzi M, Tazzari PL, Testi G, Ricchi E, Conte R, Stella A (2005) Fresh and Cryopreserved arterial homografts: immunological and clinical results. *Transplant Proc.* 37: 2688-2691.
44. Matia I, Adamec M, Janousek L, Lipar K, Viklicky O (2006) Fresh Arterial Grafts as Conduits for Vascular Reconstructions in Transplanted Patients. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 32: 549-556.
45. Zhou W, Lin PH, Bush RL, Terramani TT, Matsuura JH, Cox M, Peden E, Guerrero M, Silberfein EJ, Dardik A, Rosenthal D, Lumsden AB (2006) In Situ Reconstruction with Cryopreserved Arterial Allografts for Management of Mycotic Aneurysms or Aortic Prosthetic Graft Infections: a Multi-Institutional Experience. *Tex Heart Inst J* 33: 14-18.

46. Vardanian AJ, Chau A, Quinones-Baldrich W, Lawrence PE (2009) Arterial allografts allows in-line reconstruction of prosthetic graft infection with low recurrence rate and mortality. *Am Surg.* 75: 1000-1003.
47. Brown KE, Heyer K, Rodriguez H, Eskandari MK, Pearce WH, Morasch MD (2009) Arterial reconstruction with cryopreserved human allografts in the setting of infection: A single-center experience with midterm follow-up. *J Vasc Surg* 49: 660-666.
48. Castier Y, Paraskevas N, Maury JM, Karsenti A, Cerceau O, Legendre AF, Duprey A, Cerceau P, Francis F, Lesèche G (2010) Cryopreserved arterial allograft reconstruction for infected peripheral bypass. *Ann Vasc Surg* 24: 994-999.
49. Bisdas T, Bredt M, Pichlmaier M, Aper T, Wilhelmi M, Bisdas S, Haverich A, Teebken OE (2010) Eight-year experience with cryopreserved arterial homografts for the in situ reconstruction of abdominal aortic infections. *J Vasc Surg* 52: 323-330.
50. Biró G, Zeberin Z, Nemes A, Acsády G (2011) Cryopreserved homograft and autologous deep vein replacement for infrarenal aorto and iliaco-femoral graft infection: early and late results. *J Cardiovasc Surg* 52: 169-176.
51. Pupka A, Skora J, Janczak D, Plonek T, Marczak J, Szydelko T (2011) In Situ Revascularisation with Silver-coated Polyester Prostheses and Arterial Homografts in Patients with Aortic Graft Infection – A Prospective, Comparative, Single-centre study. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 41: 61-67.
52. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ: *Immunologie*. 5. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg-Berlin, 2002, S. 181-198.
53. Waßmuth R: *Einführung in das HLA-System*, 2., akt. und erw. Auflage., ecomed Medizin, Verlagsgruppe Hüthig Jehle Rehm GmbH, 2005, S. 1-45.
54. Bundschuh G, Schneeweiss B, Bräuer H: *Lexikon der Immunologie*. 2. erw. Aufl., Medical Service München, 1992, S. 373-379.
55. Mackay I, Rosen FS, Klein J, Sato A (2000) The HLA-System. *The New England Journal of Medicine* 343: 702-709.
56. <http://hla.alleles.org/nomenclature/naming.html>, aufgerufen am 19.02.2011. Anthony Nolan Research Institute, in association with IMGT/HLA Database and HLA Informatics Group.
57. <http://hla.alleles.org/nomenclature/stats.html>, aufgerufen am 24.01.2016. Anthony Nolan Research Institute, in association with IMGT/HLA Database and HLA Informatics Group.

58. Hill AVS, Elvin J, Willis AC, Aidoo M, Allsopp CEM, Gotch FM, Gao XM, Takiguchis M, Greenwood BM, Townsend ARM, McMichael AJ, Whittle HC (1992) Molecular analysis of the association of HLA-B53 and resistance to severe malaria. *Nature* 360: 434-439.
59. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ: *Immunologie*. 5. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg-Berlin, 2002, S.568-569.
60. Böcker W, Denk H, Heitz PU, Moch H: *Pathologie*. 4. Auflage, Urban und Fischer Verlag, München, 2008, S. 1216.
61. Fellmer P, Matia I, Tautenhan HM, Jonas S (2011) Auswirkung des Gewebegesetzes auf die Anwendung frischer arterieller Homografts. *Gefäßchirurgie* 16:403.
62. Ali AT, Modrall JG, Hocking J, Valentine RJ, Spencer H, Eidt JF, Clagett GP (2009) Long-term results of the treatment of aortic graft infection by in situ replacement with femoral popliteal vein grafts. *J Vasc Surg* 50 (1): 30-39.
63. G.A. Sicard, J.M. Reilly, M. Doblas, A. Orgaz, B.G. Rubin, M.W. Flye, R.W. Thompson, B.T. Allen (1997) Autologous vein reconstruction in prosthetic graft infections. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 14 (1): 93-98.
64. Daenens K, Fournau I, Nevelsteen A (2003) Ten-year Experience in Autogenous Reconstruction with the Femoral Vein in the Treatment of Aortofemoral Prosthetic Infection. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 25: 240-245.
65. Nevelsteen A, Lacroix H, Suy R (1995) Autogenous reconstruction with the lower extremity deep veins: an alternative treatment of prosthetic infection after reconstructive surgery for aorto-iliac disease. *J Vasc Surg* 22: 129-34.
66. Kuestner LM, Reilly LM, Jicha DL, Ehrenfeld WK, Goldstone J, Stoney RJ (1995) Secondary aortoenteric fistula: contemporary outcome using extraanatomic bypass and infected graft excision. *J Vasc Surg* 21: 184-96.
67. Seeger JM, Pretus HA, Welborn MB, Ozaki CK, Flynn TC, Huber TS (2000) Long-term outcome after treatment of aortic graft infection with staged extra-anatomic bypass grafting and aortic graft removal. *J Vasc Surg* 32: 451-61.
68. Bacourt F, Koskas F (1992) Axillo-femoral bypass and aortic exclusion for vascular septic lesions: a multicenter retrospective study of 98 cases. *Ann Vasc Surg* 6: 119-26.
69. Oderich GS, Bower TC, Cherry KJ, Panneton JM, Sullivan TM, Noel AA (2006) Evolution from axillofemoral to in situ prosthetic reconstruction for the treatment of aortic graft infections at a single center. *J Vasc Surg* 43: 1166.

70. Yeager RA, Taylor LM, Moneta GL, Edwards JM, Nicoloff AD, McConnell D (1999) Improved results with conventional management of infrarenal aortic infection. *J Vasc Surg* 30: 76-83.
71. Bandyk DF, Novotney ML, Back MR, Johnson BL, Schmacht DC (2001) Expanded application of in situ replacement for prosthetic graft infection. *J Vasc Surg* 34: 411.
72. O'Connor S, Andrew P, Batt M, Becquemin JP (2006) A systematic review and meta-analysis of treatments for aortic graft infection. *J Vasc Surg* 44: 38-45.
73. Colburn MD, Moore WS, Chapvil M, Gelabert HA, Quinones-Baldrich WJ (1992) Use of an antibiotic-bonded graft for in situ reconstruction after prosthetic graft infections. *J Vasc Surg* 16: 651-60.
74. Goeau-Brissoniere O, Mercier F, Nicolas MH, Bacourt F, Coggia M, Lebrault C (1994) Treatment of vascular graft infection by in situ replacement with a rifampin-bonded gelatin-sealed Dacron graft. *J Vasc Surg* 19: 739-44.
75. Young RM, Cherry KJ Jr, Davis PM, Gloviczki P, Bower TC, Panneton JM, Hallett JW Jr. (1999) The results of in situ prosthetic replacement for infected aortic grafts. *Am J Surg* 178: 136-40.
76. Hayes PD, Nasim A, London NJM, Sayers RD, Barrie WW, Bell PRF, Naylor AR (1999) In situ replacement of infected aortic grafts with rifampicin-bonded prostheses: the Leicester experience (1992 to 1998). *J Vasc Surg* 30:92-8.
77. Oderich GS, Bower TC, Hofer J, Kalra M, Duncan AA, Wilson JW, Cha S, Gloviczki P (2011) In situ rifampin-soaked grafts with omental coverage and antibiotic suppression are durable with low reinfection rates in patients with aortic graft enteric erosion or fistula. *J Vasc Surg* 53 (1): 99-106.
78. Bandyk DF, Novotney ML, Johnson BL, Back MR, Roth SR (2001) Use of rifampin-soaked gelatin-sealed polyester grafts for in situ treatment of primary aortic and vascular prosthetic infections. *J Surg Res* 95 (1): 44-9.
79. Vicaretti M, Hawthorne W, Ao PY, Fletcher JP (1999) Does in situ replacement of a staphylococcal-infected vascular graft with a rifampicin impregnated gelatin sealed Dacron graft reduce the incidence of subsequent infection? *Int Angiol* 18: 225-32.
80. Koshiko S, Sasajima T, Muraki S, Azuma N, Yamazaki K, Chiba K, Tachibana M, Inaba M (2002) Limitations in the use of rifampicin-gelatin grafts against virulent organisms. *J Vasc Surg* 35: 482-6.

81. Naylor AR, Clark S, London NJM, Sayers RD, MacPherson DS, Barrie WW, Bell PRF (1995) Treatment of major aortic graft infection: preliminary experience with a rifampicin-experience with a rifampicin-bonded prosthesis. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 9: 252-6.
82. Ahearn DG, Grace DT, Jennings MJ, Borazjani RN, Boles KJ, Rose LJ, Simmons RB, Ahanotu EN (2000) Effects of hydrogel/silver coatings on in vitro adhesion to catheters of bacteria associated with urinary tract infections. *Curr Microbiol* 41: 120-125.
83. Raad I, Hanna H (1999) Intravascular catheters impregnated with antimicrobial agents: a milestone in the prevention of blood stream infections. *Support Care Cancer* 7: 386-90.
84. Tweden KS, Cameron JD (1997) Biocompatibility of silver-modified polyester for antimicrobial protection of prosthetic valves. *J Heart Valve Dis* 6: 553-61.
85. Carrel T, Nguyen T, Kipfer B, Althaus U (1998) Definitive cure of recurrent prosthetic endocarditis using silver-coated St. Jude medical heart valves: a preliminary case report. *J Heart Valve Dis* 7: 531-3.
86. Batt M, Magne JL, Alric P, Muzj A, Ruotolo C, Ljungstrom KG, Garcia-Casas R, Simms M (2003) In situ revascularization with silver-coated polyester grafts to treat aortic infection: Early and midterm results. *J Vasc Surg* 38: 983-9.
87. Zegelman M, Gunther G (2002) Infected grafts require excision and extraanatomic reconstruction. In: Greenhalgh RM, ed. *The evidence for vascular or endovascular reconstruction*. CV Mosby Co, Philadelphia, 2002, S. 252-8.
88. Batt M, E. Jean-Baptiste E, O'Connor S, Bouillanne PJ, Haudebourg P, Hassen-Khodja R, Declémy S, Farhad R (2008) In-situ Revascularisation for Patients with Aortic Graft Infection: A Single Centre Experience with Silver Coated Polyester Grafts. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 36 (2): S. 182-8.
89. Pupka A, Skora J, Janczak D, Plonek T, Marczak J, Szyde T (2011) 104 Patients with Aortic Graft Infection – A Prospective, Comparative, Single-centre Study. *Eur J Vasc Endovasc Surg* (2011) 41, 61-67.
90. Moore WS, Swanson RJ, Campagna G, Bean B (1975) The use of fresh tissue arterial substitutes in infected fields. *J Surg Res* 18 (3): 229-33.
91. Snyder SA, Wheeler JR, Gregory RT, Gayle RG, Zirkle PK (1987) Freshly harvested cadaveric venous homografts as arterial conduits in infected fields. *Surgery* 101 (3): 283-291.
92. Fabien Koskas F, Goëau-Brissonnière O, Nicolasc MH, Bacourt F, Kieffer E ( ) Arteries from human beings are less infectible by *Staphylococcus aureus* than polytetrafluoroethylene in an aortic dog model. *J Vasc Surg* 23 (3): 472-6.

93. Valentine RJ, Clagett GP (2001) Aortic graft infections: replacement with autogenous vein. *Cardiovasc Surg* 9 (5): 419-425.
94. Schlaf G, Pollok-Kopp B, Altermann WW (2014) Sensitive Solid-Phase Detection of Donor-Specific Antibodies as an Aid Highly Relevant to Improving Allograft Outcomes. *Mol Diagn Ther* 18: 185-201.
95. Schlaf G, Pollok-Kopp B, Manzke T, Schurat O, Altermann WW (2010) Novel solid phase-based ELISA assays contribute to an improved detection of anti-HLA antibodies and to an increased reliability of pre- and post-transplant crossmatching. *Nephrol Dial Transplant Plus* 3 (6): 527-538.
96. Mirelli M, Nanni-Costa A, Scolari MP, Iannelli S, Buscaroli A, Ridolfi L, Petrini F, Stella A, DeSanctis L, Borgnino LC, Stefoni S, D'Addato M, Bonomini V (1998) Mismatch-specific anti-HLA antibody production following aorta transplants. *Transpl Int* 11 (Suppl 1): 444-447.
97. Plissonier D, Nochy D, Poncet P, Mandet C, Hinglais N, Bariety J, Michel JB (1995) Sequential immunological targeting of chronic experimental arterial allograft. *Transplantation* 60 (5): 414-424.
98. Pasquinelli G, Pistillo MP, Ricci F, Buzzi M, Tazzari PL, Foroni L, Manferdini C, Ceccarelli C, Stella A, Conte R (2007) The "in-situ" expression of Human Leukocyte Antigen Class I antigens is not altered by cryopreservation in human arterial allografts. *Cell Tissue Banking* 8: 195-203.
99. Pupka A, Skora J, Janczak D, Patrzalek D, Rucinski A, Korta K, Stepinski P, Szyber P (2004) Immunosuppression in the treatment of vascular prosthesis infection with arterial transplantation. *Pol Merkuri Lekarski* 16 (91): 8-11.
100. Carpenter JP, Tomaszewski JE (1998) Human saphenous vein allograft bypass grafts: immune response. *J Vasc Surg* 27 (3): 492-9.
101. Callow AD (1996) Arterial homografts. *Eur J Vasc Surg* 12 (3): 272-81.
102. Teebken OE, Bisdas T (2011) Immunosuppression following Fresh Arterial Homograft Implantation for Aortic Graft Infections. *Eur J Vasc Endovasc* 41: S. 859-860.
103. Demetris AJ, Zerbe T, Banner B (1989) Morphology of solid organ allograft arteriopathy: Identification of proliferating intimal cell populations. *Transplant Proc* 21: 3667-3669
104. Croker BP, Salomon DR (1989) Pathology of the renal allograft. *Renal Pathol* 2: 1518-1551.

105. Johnson DE, Gao SZ, Schroeder JS, De Campi WM, Billingham ME (1989) The spectrum of coronary artery pathologic findings in human cardiac allografts. *J Heart Transplant* 8: 349-359.
106. Hammond EH, Yowell RL, Price GD, Menlove RL, Olsen SL, O'Connell JB, Bristow MR, Doty DB, Millar RC, Karwande SV (1992) Vascular rejection and its relationship to allograft coronary artery disease. *J Heart Lung Transplant* 11 (3) Pt 2: S111-9.
107. Michaels PJ, Espejo ML, Kobashigawa J, Alejos JC, Burch C, Takemoto S, Reed EF, Fishbein MC (2002) Humoral rejection in cardiac transplantation: risk factors, hemodynamic consequences and relationship to transplant coronary artery disease. *J Heart Lung Transplant* 22 (1): 58-69.
108. Vasilescu ER, Hoa EK, de la Torre L, Itescua S, Marboea C, Cortesinia R, Suciufocaa N, Mancinib D (2004) Anti-HLA antibodies in heart transplantation. *Transplant Immunology* 12: 177–183
109. Thiede A: Gefäßtransplantation: Untersuchungen an standardisierten Ratteninzuchtstammkombinationen. Die Bedeutung immunologischer Reaktions-mechanismen. *Ergebnisse der Angiologie Band 15*. F. K. Schattauer Verlag, Stuttgart-New York, 1977.
110. Mennander A, Tiisala S, Halttunen J, Yilmaz S, Paavonen T, Hävry P (1990) Chronic Rejection in Rat Aortic Allografts. An Experimental Model for Transplant Arteriosclerosis. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 11: 671-680.
111. Plissonier D, Levy BI, Salzmann JL, Nochy D, Watelet J, Michel JB (1991) Allograft-Induced Arterial Wall Injury and Response in Normotensive and Spontaneously Hypertensive Rats. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 11: 1690-99.
112. Szilagyi DE, Rodriguez FJ, Smith RF, Elliott JP (1970) Late Fate of Arterial Allografts Observations 6 to 15 Years After Implantation. *Arch Surg.* 101(6): 721-733.
113. Munro JM, Cotran RS (1988) The pathogenesis of atherosclerosis. *Atherogenesis and inflammation* 8: 249-261.
114. Foegh ML (1990) Chronic rejection-graft arteriosclerosis. *Transplant Proc* 22: 119-122.

## 8. Thesen

1. Humane allogene Arterientransplantate (Homografts) stellten mit einer 84%igen Heilungsrate eine erfolgreiche Therapieoption zur Behandlung von Gefäßbypassinfektionen dar.
2. Aufgrund willkürlicher Spender-/Empfängerkombinationen erwiesen sich die verwendeten allogenen Gefäßtransplantate mit einem durchschnittlichen Anstieg der HLA-Panelreaktivität (PRA%) als hoch immunogenes Gewebe, um eine Spender-spezifische anti-HLA Immunantwort zu induzieren. Der durchschnittliche Anstieg der HLA-Panelreaktivität (PRA%) betrug 71% je Transplantation.
3. Bei der allogenen Arterientransplantation korrelierten die HLA-Inkompatibilitäten zwischen Spender und Empfänger mit der Bandbreite der alloreaktiven humoralen anti-HLA Immunreaktion.
4. Im Falle einer guten HLA-Kompatibilität (bis zu zwei von sechs möglichen HLA-Inkompatibilitäten der drei Genorte HLA-A, -B, -DR) von Spendern und Empfängern der allogenen arteriellen Transplantate konnte eine gegen HLA-Antigene gerichtete Immunantwort reduziert oder komplett umgangen werden. Für alle vier Patienten dieser immunologisch günstigen Spender-Empfänger Konstellation konnte eine komplikationslose Transplantatfunktion bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes beobachtet werden.
5. Bei 89% der Empfänger von humanen allogenen arteriellen Gefäßen waren nach der Transplantation eindeutig virtuell nachweisbare Spender- bzw. Transplantat-spezifische anti-HLA Antikörper (DSA) vorhanden.
6. Die allo-immune humorale Immunantwort bewirkte in Abhängigkeit von der postoperativen Zeit zunehmend chronisch degenerative Gewebeveränderungen im Transplantat.
7. Trotz der massiven HLA-Antigen-spezifischen Immunantwort gegen das arterielle Transplantat und der offensichtlich resultierenden degenerativen Veränderungen blieb die Funktionsfähigkeit der Transplantate bei 84% der Patienten in der Nachbeobachtungszeit erhalten.

8. Eine niedrig-dosierte Immunsuppression mit Sirolimus (Rapamune) erwies sich zur Unterdrückung der humoralen anti-HLA Immunantwort nach allogenen Arterientransplantationen als wirkungslos.
  
9. Aus der Verwendung eines willkürlich ausgewählten, d.h. weitgehend HLA-inkompatiblen Transplantates, ist durch die ausgeprägte Immunisierung (anti-HLA Antikörperbildung) eine massive Einschränkung hinsichtlich der Auswahl eines geeigneten Spenderorganes für eine Folgetransplantation zu erwarten. Für die Auswahl solider Organe gilt es für einen prospektiven Organempfänger als Ausschlussprinzip, wenn in seinem Serum Antikörper gegen HLA-Merkmale des Spenders nachgewiesen werden können (sogenannte positive virtuelle Verträglichkeitsprobe). Die oben erwähnte durchschnittliche Zunahme der PRA von 71% je Transplantation repräsentiert eine 71%ige Wahrscheinlichkeit für eine positive Verträglichkeitsprobe (Kreuztest) und somit eine 71%ige Wahrscheinlichkeit für die Kontraindikation einer Organzuteilung. Die Folgen der aus einer beliebigen Gefäßauswahl resultierenden Allo-Immunisierung sind folglich sorgfältig für jeden Patienten abzuwägen. Insbesondere ist zu erwägen, ob der Patient zukünftig ein weiteres solides Organtransplantat benötigen könnte, um ihm diese therapeutische Option nicht zu entziehen.

## **Selbstständigkeitserklärung**

Die vorliegende Arbeit wurde von mir ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter der Angabe der Quelle gekennzeichnet. Die Regeln zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis wurden beachtet (Amtsblatt der MLU Nr.5, 02.07.09).

Ich versichere, dass ich für die inhaltliche Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen habe. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

## **Erklärung über Promotionsversuche**

Ich erkläre, dass ich keinerlei frühere Promotionsversuche unternommen habe und an keiner anderen Fakultät oder Universität ein Promotionsverfahren anhängig ist.

Halle, den 30.03.2016

Holger Konrad