

ORAL PRESENTATIONS

THURSDAY, OCTOBER 16, 2014, 08:30–10:00 h
SITZUNG: PARALLELSITZUNG 1 (NIERE)

001 POST-TRANSPLANTATION DIABETES MELLITUS: EVALUATION OF TREATMENT REGIMES

Michael Haidinger, Johannes Werzowa, Marlies Antlanger, Chantal Kopecky, Johannes J. Kovarik, Manfred Hecking, Marcus D. Säemann
Department of Medicine III, Division of Nephrology and Dialysis, Medical University of Vienna

Background: Post-transplantation diabetes mellitus (PTDM) is a serious complication with high prevalence in kidney transplant recipients (KTRs) which is associated with increased rates of morbidity and mortality. Evidence regarding long-time antidiabetic treatment regimens remains scarce.

Methods: The aim of this retrospective analysis was to assess the long-term efficiency and safety of antidiabetic treatments in KTRs, who were newly diagnosed with PTDM by an oral glucose tolerance test (OGTT). The primary endpoint of the study was the number of patients with PTDM receiving antidiabetic treatment at the end of the study. Secondary endpoints included the type of antidiabetic medication and their effect on glycemic control, safety parameters, graft and patient survival.

Results: Of 570 KTRs that were screened for PTDM at our outpatient clinic, 71 (13%) had 2 h plasma glucose (2HPG) ≥ 200 mg/dl during OGTT and were included in our study. Mean follow-up was 34.2 ± 16.1 months. All patients received instructions regarding life-style modification at inclusion. 36 PTDM patients (51%) were treated initially with either Dipeptidyl peptidase 4 (DPP-4) inhibitors, sulfonylureas, pioglitazone or insulin, whereas 35 patients (49%) received medication at the end of the study. These patients had significantly higher fasting glucose and 2HPG values at baseline than those without therapy. Life-style modification alone did not improve glycemic control. No difference in graft and patient survival was observed between treated and non-treated patients. Adverse events were generally mild and occurred at similar rates in all treatment groups compared to patients without medication.

Conclusion: In conclusion, not all patients with diabetic OGTTs require antidiabetic medication permanently. Besides insulin, DPP-4 inhibitors can be applied as effective and safe oral antidiabetic agents for PTDM after kidney transplantation.

002 CONTINUOUS GLUCOSE MONITORING (CGM) FOR THE DIAGNOSIS OF POST-TRANSPLANTATION DIABETES MELLITUS (PTDM)

Catharina Fidler¹, Manfred Hecking¹, Michael Haidinger¹, Helmut Brath², Marcus Säemann¹, Johannes Werzowa¹

¹Division of Nephrology, Department of Internal Medicine 3, Medical University of Vienna; ²Diabetes Outpatient Clinic, Health Center South, Vienna, Austria

Background: Continuous Glucose Monitoring (CGM) offers the possibility to obtain continuous glucose profiles over several days allowing for the calculation of many indices of glycemic control and variability. Whether CGM is a valid tool for the diagnosis of post-transplant diabetes (PTDM) has not yet been examined. Currently, oral glucose tolerance testing (OGTT) is seen as gold-standard for PTDM-diagnosis, whereas the roles of HbA1c and fasting plasma glucose have been debated. In this study we assessed glycemic profiles of transplant recipients and examined their correlation with HbA1c and OGTT results.

Methods: 18 stable renal transplant recipients with pathologic OGTTs underwent CGM for 7 days. CGM derived indices such as mean blood glucose and time spent in the euglycemic range were correlated with OGTT and HbA1c. Additionally, CGM results were compared to CGM results of an age-matched group of 28 diabetes mellitus type 2 patients.

Results: According to their OGTT result 10 KTRs were classified as diabetic and 8 as prediabetic. Upon CGM analysis most KTRs showed less hyperglycemic episodes than would have been expected from their OGTT results. Indeed, their mean blood glucose (MBG) of 111 mg/dl and time spent in euglycemic range (70–140 mg/dl) of 85% were more comparable to those of healthy subjects (MBG: 90–104 mg/dl) rather than to diabetics (MBG: 135–171 mg/dl).

Glycemic variability was analyzed using standard deviation (SD), coefficient of variation and interquartile range and most results lay within the reference range for healthy individuals. SD values: healthy: 7–27 mg/dl, KTR: 11 mg/dl, diabetic: 12–56 mg/dl.

The sensitivity and specificity of several CGM derived parameters for the diagnosis of PTDM were assessed using receiver operating characteristic (ROC) curves. Although sensitivity and specificity for most indices were relatively low MBG performed better than HbA1c (AUC for MBG: 0.7, time >140 mg/dl: 0.6, AUC for HbA1c: 0.57).

Discussion: Transplant patients had lower glucose levels during CGM than comparable diabetic groups, regardless of diabetic OGTT and/or HbA1c. We thus suggest questioning the role of OGTT despite being the gold-standard, and recommend the wider use of CGM to avoid overdiagnosis of PTDM. Further, our data show that HbA1c poorly reflects MBG in KTRs.

003 ZWEI FLIEGEN AUF EINEN STREICH – ALTERNATIVES UND KLASSISCHES KOMPLEMENT: ECULIZUMAB BEI ATYPISCHEM HUS, GETRIGGERT DURCH ANTI-HLA ANTIKÖRPER-MEDIERTE ABSTOßUNG

Farsad Eskandary¹, Heinz Regele², Markus Wahrmann¹, Claudia Honsig³, Marcus Säemann¹, Georg A. Böhmig¹

¹University-Klinik für Innere Medizin III, Klinische Abteilung für Nephrologie und Dialyse, Medizinische Universität Wien; ²Klinisches Institut für Pathologie, Medizinische Universität Wien; ³Klinisches Institut für Klinische Virologie, Medizinische Universität Wien

Hintergrund: Das atypische hämolytisch-urämische Syndrom (aHUS) rekurriert häufig nach Nierentransplantation. Rezente wurde berichtet, dass eine Antikörper-medierte Abstoßung (AMR) auf dem Boden einer aHUS Genetik eine solche Rekurrenz auslösen kann. Über die Rolle einer anti-HLA Antikörper-vermittelten klassischen Komplementaktivierung als Trigger der Aktivierung eines fehlerregulierten alternativen Komplementpfades kann spekuliert werden. Wir berichten über einen Fall, wo eine solche duale Komplementaktivierung ein Transplantatversagen verursacht haben dürfte, und dieser Pathomechanismus durch terminale Komplementblockade erfolgreich durchbrochen werden konnte.

Methodik: Der Nachweis Donor-spezifischer Antikörper (DSA) erfolgte mittels Luminex-Single-Bead-Array-Technologie. Serielle Transplantatbiopsien wurden histomorphologisch, immunhistochemisch (C4d) und elektronenmikroskopisch aufgearbeitet.

Ergebnisse: Eine 32-jährige Patientin mit terminalem Nierenversagen aufgrund einer postpartalen thrombotischen Mikroangiopathie (TMA) mit Krankheits-assoziierten genetischen Varianten der Komplementregulatoren Faktor H und MCP erhielt im September 2013 ein Leichnierentransplantat (HLA-Mismatch 1-1-1, CDC-PRA 0%). Die Transplantation erfolgte unter perioperativer Plasmapherese (PP) mit der Idee einer Rekurrenzprävention. Die PP musste allerdings aufgrund einer schweren Unverträglichkeitsreaktion früh beendet werden. Im ersten Verlauf normalisierte sich die Transplantatfunktion (Serum-Kreatinin bis 1.2 mg/dl), nach etwa einer Woche kam es aber zu einem raschen Anstieg des Kreatinins (bis 3.7 mg/dl) mit Hämolysezeichen, Thrombopenie (bis 39 G/l) und systemischem Komplementverbrauch. Eine Biopsie ergab eine glomeruläre TMA und zudem das Vollbild einer AMR mit kapillärer Ablagerung des klassischen Komplementspaltprodukts C4d, assoziiert mit hochtitrigen HLA Klasse I DSA (anti-B44). Die Patientin erhielt einen Steroidbolus, eine Therapie mit Immunadsorption (IA, Globaffin[®]; 3 konsekutive Behandlungen) mit dem Ziel einer Reduktion des HLA Antikörper-Loads, sowie in weiterer Folge in 14-tägigem Intervall den C5 Antikörper Eculizumab, mit dem Ziel einer selektiven Komplementblockade. Unter dieser Therapie kam es zu einer prompten Normalisierung der hämatologischen Parameter sowie der Nierenfunktion. Interessanterweise zeigte sich nach anfänglicher Absenkung der DSA durch IA unter Eculizumab-Therapie kein DSA Rebound. Zwei Follow-up Biopsien (Monat 3 und 8) bei exzellenter Nierenfunktion, zeigten weder eine Abstoßung noch eine TMA. Ebenso fanden sich Hämolyse-Parameter, Thrombozytenzahl bzw. C3 und C4 Konzentration konstant im Normbereich.

Zusammenfassung: Der aktuelle Fall illustriert eindrucksvoll die Möglichkeit einer klinisch bedeutsamen Interaktion zwischen klassischem und alternativem Komplementsystem (AMR als Trigger eines aHUS). Der erfolgreiche Einsatz des innovativen Biologikums Eculizumab unterstreicht die Bedeutung von anti-Komplement-Strategien in der Organtransplantation.

004

CAPILLARY C4D DEPOSITION PREDICTS INFERIOR RENAL ALLOGRAFT SURVIVAL AND GREATER GFR SLOPES INDEPENDENTLY OF MORPHOLOGICAL LESIONS SUGGESTIVE OF ANTIBODY-MEDIATED REJECTION

Željko Kikić¹, Alexander Kainz^{1,3}, Nicolas Kozakowski², Rainer Oberbauer^{1,3}, Heinz Regele², Gregor Bartel¹, Georg A. Böhmig¹

¹Division of Nephrology and Dialysis, Department of Medicine III, Medical University of Vienna, Vienna, Austria; ²Institute of Clinical Pathology, Medical University of Vienna, Vienna, Austria; ³Department of Medicine III, Hospital of Elisabethinen Linz, Linz, Austria

Background: Antibody-mediated rejection (AMR) is a major determinant of long-term kidney transplant survival. In support of a role of both complement-dependent and -independent graft injury, typical (micro)circulation lesions suggestive of AMR were found to occur also frequently in the absence of C4d deposition in peritubular capillaries (PTC). Considering an important role of C4d-negative AMR, some authors have recently questioned the relevance of C4d as an independent rejection marker.

Methods: In this study, 885 of 1248 renal transplant recipients (transplantation 1999–2006) subjected to one or more indication biopsies ($n = 1976$) were included and re-evaluated for C4d staining patterns (immunohistochemistry) and distinct AMR features [glomerulitis, peritubular capillaritis, capillary microthrombi, severe intimal arteritis (v3), chronic glomerulopathy]. Endpoints were censored graft survival and eGFR slope.

Results: C4d score in PTC, individual AMR features and the sum score of AMR features showed tight interrelationships ($P < 0.001$), and were significantly associated with death censored graft loss ($P < 0.001$). AMR features were frequently found also in the absence of C4d staining (247 patients). Eight-year graft survival was worse in patients with positive C4d staining (59%) than in C4d-negative patients with (71%) or without (87%) AMR features, respectively ($P < 0.001$). In spline interaction models adjusting for multiple confounders including the presence or absence of AMR features, C4d staining turned out to be a strong independent risk factor of allograft loss [HR: 2.45 (1.34–4.47), $P = 0.004$]. Moreover, spline models revealed that the additive risk of positive C4d staining was associated with the overall sum score of individual AMR features. For C4d positive recipients unadjusted GFR slopes were significantly greater throughout the analysed period, for one year: $-6.9 \text{ ml/min/1.73 m}^2$, $P = 0.006$, three years: $-7.4 \text{ ml/min/1.73 m}^2$, $P = 0.01$, five years: $-9.1 \text{ ml/min/1.73 m}^2$, $P = 0.01$, respectively. Multivariate mixed effects models revealed that C4d in PTC is a strong independent risk factor for higher eGFR slopes ($P < 0.001$).

Conclusion: Our data support the view that detection of intragraft complement activation may indicate a more severe course of AMR and suggest that C4d staining in indication biopsies is an excellent marker predicting inferior graft survival and higher GFR slopes also independently of morphological AMR features.

005

DIE PROBLEMATIK ANTIKÖRPER-MEDIERTER ABSTOßUNG IN DER SPÄTPHASE NACH NIERENTRANSPLANTATION – ERGEBNISSE AUS DER SCREENING-PHASE DER BORTEJECT-STUDIE

Farsad Eskandary¹, Heinz Regele², Markus Wahrmann¹, Nicolas Kozakowski², Lena Marinova¹, Željko Kikić¹, Susanne Rasoul-Rockenschaub³, Gottfried Fischer⁴, Christine Winzer¹, Gregor Bond¹, Elisabeth Schwaiger¹, Helmuth Haslacher⁵, Rainer Oberbauer^{1,6}, Georg A. Böhmig¹

¹University-Klinik für Innere Medizin III, Klinische Abteilung für Nephrologie und Dialyse, Medizinische Universität Wien; ²Klinisches Institut für Pathologie, Medizinische Universität Wien; ³University-Klinik für Chirurgie, Klinische Abteilung für Transplantationschirurgie, Medizinische Universität Wien; ⁴University-Klinik für Blutgruppenserologie und Transfusionsmedizin, Medizinische Universität Wien; ⁵Klinisches Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik, Medizinische Universität Wien; ⁶Krankenhaus der Elisabethinen, III. Interne Abteilung, Linz

Hintergrund: Späte Antikörper-vermittelte Abstoßung (AMR) gilt als kardinale Ursache für Transplantatverlust im Langzeitverlauf nach Nierentransplantation. Deren tatsächliche Prävalenz ist ungeklärt, da die Literatur auf den Ergebnissen von Indikationsbiopsien beruht. Die BORTEJECT-Studie ist eine monozentrische (Medizinische Universität Wien) prospektive, doppelt-verblindete, Placebo-kontrollierte, randomisierte Interventionsstudie, in der der anti-humorale Effekt des Proteasom-Inhibitors Bortezomib systematisch untersucht wird. Die Screening-Phase dieser Studie beinhaltet ein HLA-Antikörper-Screening mit anschließender Protokoll-NTX-Biopsie. Dies soll Aufschluss über das Auftreten von später AMR in einem großen Langzeit-NTX Kollektiv geben.

Methoden: Die Screening-Phase der Studie wurde in einem Querschnitt ambulanter Patienten durchgeführt. Kardinale Einschlusskriterien waren: (i) ein funktionierendes Transplantat ≥ 6 Monate, (ii) eine glomeruläre Filtrationsrate (Mayo-GFR) $>20 \text{ ml/min/1.73 m}^2$, (iii) sowie Kriterien, die die Inklusion in eine

klinische Interventionsstudie ausschließen. Alle Patienten wurden auf das Vorliegen Donor-spezifischer Antikörper (DSA) mittels Luminex-Technologie und Evaluation der Spender- und Empfänger-HLA-Typisierungsergebnisse analysiert. Bei DSA-positiven Patienten erfolgte eine Transplantatbiopsie zum Nachweis einer möglichen späten AMR.

Ergebnisse: Zwischen 10/2013 und 06/2014 wurden 551 Patienten im Querschnitt evaluiert. Das mediane Alter bei Transplantation betrug 48 Jahre (Min-Max: 5–82). Das Screening erfolgte im Median sechs Jahre (0.5–35) nach Transplantation (Ältestes TX-Jahr 1979). 306 Patienten (56%) zeigten im Antikörper-Vorscreening eine HLA Klasse I und/oder II Reaktivität (nur HLA I: $n = 75$, nur HLA II: $n = 79$, HLA I + II: $n = 152$). Insgesamt konnte in der Detailanalyse bei 73 der 551 untersuchten Patienten (13%) ein Nachweis von DSA erbracht werden, wobei anti-DQ Reaktivitäten am häufigsten waren (56% der DSA+ Patienten). Bei 422 (77%) konnte das Vorliegen von DSA gegen relevante HLA Loci (A, B, Cw, DR, DQ, DP) ausgeschlossen werden. Bei 52 (9%) hingegen war dies aufgrund inkompletter HLA-Typisierung (Cw und/oder DQ) bzw. dem Vorliegen signifikanter DP-Reaktivitäten (derzeit keine Typisierungen verfügbar) nicht gänzlich möglich. Es wurden 60 von 73 Patienten biopsiert (keine Komplikationen). Dabei ergab sich bei 36 Empfängern (11% des Gesamtkollektivs) der Nachweis einer akuten und/oder chronisch aktiven AMR (C4d-positiv AMR: 40%, C4d-negativ AMR: 60%).

Schlussfolgerung: Wir konnten in einem großen Kollektiv von Langzeit-transplantierten bei etwa jedem zehnten Patienten das Vorliegen einer protokoll-biopsisch verifizierten AMR beweisen. Diese umfassende systematische Analyse weist auf eine beträchtliche Relevanz der Problematik später Abstoßung als potenzielle Ursache eines Transplantatversagens hin.

006

DONOR-SPEZIFISCHE ANTIKÖRPER (DSA) SPÄT NACH NIERENTRANSPLANTATION – IMMER BOSE? ERGEBNISSE AUS DER SCREENING-PHASE DER BORTEJECT-STUDIE

Farsad Eskandary¹, Heinz Regele², Markus Wahrmann¹, Nicolas Kozakowski², Lena Marinova¹, Željko Kikić¹, Susanne Rasoul-Rockenschaub³, Gottfried Fischer⁴, Christine Winzer¹, Gregor Bond¹, Elisabeth Schwaiger¹, Helmuth Haslacher⁵, Rainer Oberbauer^{1,6}, Georg A. Böhmig¹

¹University-Klinik für Innere Medizin III, Klinische Abteilung für Nephrologie und Dialyse, Medizinische Universität Wien; ²Klinisches Institut für Pathologie, Medizinische Universität Wien; ³University-Klinik für Chirurgie, Klinische Abteilung für Transplantationschirurgie, Medizinische Universität Wien; ⁴University-Klinik für Blutgruppenserologie und Transfusionsmedizin, Medizinische Universität Wien; ⁵Klinisches Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik, Medizinische Universität Wien; ⁶Krankenhaus der Elisabethinen, III. Interne Abteilung, Linz

Hintergrund: Späte Antikörper-vermittelte Abstoßung gilt als wesentliche Ursache für Langzeit-Transplantatverlust. Der Nachweis von DSA gegen HLA-Antigene ist mit einem schlechteren Transplantatüberleben assoziiert. Im Rahmen einer prospektiven, randomisierten, Placebo-kontrollierten doppelt-verblindeten Interventionsstudie (BORTEJECT-Studie, NCT01873157) wurden serologische (DSA) und morphologische (Protokollbiopsien) Parameter erfasst, die für AMR prädiktiv sind.

Methoden: Von 10/2013-06/2014 wurden in einer Querschnittanalyse ($n = 551$) 73 (13%) DSA-positiv Langzeit-NTX-Patienten mit stabiler Transplantatfunktion ≥ 6 Monate post-NTX und einer glomerulären Filtrationsrate (Mayo-GFR) $>20 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ identifiziert. Der serologische DSA Nachweis erfolgte mittels Luminex-Technologie (Seren-Hitzeinaktivierung zur Behebung falsch-niedriger Meßwerte durch das störende *in vitro* Prozone Phänomen). Es wurden 60 Biopsien durchgeführt, nach Einzelkriterien befundet und klassifiziert (keine AMR vs. C4d-negativ AMR vs. C4d-positiv AMR).

Ergebnisse: Die 60 DSA-positiven Patienten waren im Median 4.7 (Min-Max: 0.5–24) Jahre nach Transplantation. Einundzwanzig (35%) der Patienten hatten isoliert HLA-I, 26 (43%) HLA-II DSA, und 13 (22%) sowohl HLA-I als auch -II DSA. Die Mehrheit (63%) hatte DSA gegen Eine definierte HLA Spezifität (zwei DSA: 23%; drei oder vier verschiedene DSA: 7%). Die je Patient gemessene maximale mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) betrug im Median 2441 (1037–16 921) die mediane Summe der MFI aller detektierte DSA war 3284 (1041–34 745). Die Biopsien ergaben in 60% der Fälle eine akute und/oder chronische AMR, 40% davon mit C4d-Positivität. Auf der Suche nach serologischen Prädiktoren für Abstoßung fanden wir eine AMR häufiger bei Patienten mit HLA-II oder HLA-I plus -II DSA (66% bzw. 69% vs. 48% bei Patienten mit ausschließlich HLA-I DSA). Für den prädiktiven Wert der Anzahl identifizierter DSA bzw. der MFI wendeten wir ROC Statistik an. Während die Anzahl gemessener DSA für AMR wenig prädiktiv war (AUC der ROC: 0.59), fand sich eine gute Prädiktion für die maximale MFI (0.83), allerdings ohne wesentlichen Zugewinn durch eine Auswertung summierter MFI Werte für alle gemessenen DSA (0.85). Weiters fanden wir für die 36 nachgewiesenen AMR Fälle eine Assoziation zwischen DSA-Bindungsstärke (MFI) und C4d-Positivität. Für maximale und summierte MFI waren die AUC Werte bei 0.9 bzw. 0.87.

Schlussfolgerung: Die Screening-Phase der BORTEJECT-Studie zeigte, dass eine exakte Charakterisierung zirkulierender DSA mittels Mikrobead-Technologie insbesondere die Erfassung detektierte MFIs nach Ausschluß des Prozone Phänomens, eine hervorragende Prädiktion humoraler Abstoßung und deren Qualität ermöglicht.

SITZUNG: PARALLELSITZUNG 2 (KMT)

007 NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS) ERLAUBT EINE VOLLSTÄNDIGE CHARAKTERISIERUNG VON HLA ALLELEN

Ingrid Faé, Sabine Wenda, Gottfried F. Fischer

MedUni Wien University-Klinik für Blutgruppenserologie und Transfusionsmedizin

Hintergrund: Die Definition des HLA Polymorphismus erfolgt derzeit über die Charakterisierung des Peptid bindenden Abschnitts. Dieser Teil der HLA Moleküle bestimmt das Repertoire der gebundenen Peptide und wird zur Vorhersage einer zellulären bzw. humoralen Immunantwort im Rahmen der Gewebeerträglichkeitsbestimmung verwendet. Die Charakterisierung der übrigen Abschnitte war im Rahmen der Routinediagnostik vor Transplantationen von Stammzellen und soliden Organen nicht durchführbar. Mit der Einführung der Next Generation Sequenzierung ist es nun möglich eine Typisierung der HLA-Allele von der Promotorregion bis zu der 3' UTR vorzunehmen.

Methode: HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQA1, -DQB1 und -DPB1 Allele werden in einer Long Range PCR von der 5'UTR bis zu der 3' UTR amplifiziert. Die Produkte weisen eine Länge von 5 kb bis zu 11 kb auf. Die Amplifikationsprodukte werden mit Hilfe von Enzymen fragmentiert. Die Fragmente werden mit Adaptoren versehen und nach einer Größenselektion auf Beads gebunden und in einer Emulsions-PCR clonal vermehrt. Im Anschluss werden sie auf einen Chip transfertiert. In einem Ion Torrent PGM wird dann die Sequenz in Echtzeit bestimmt. Mit Hilfe eines Analyse Programmes werden die HLA-Allele ausgewertet.

Ergebnis: Bei 30 Spendern wurden HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DQA1 und DPB1 allele mit NGS und parallel im herkömmlichen Sanger Sequenzierungsverfahren bestimmt. Grund für diskrepante Befunden war in der Mehrzahl der Fälle der Verlust von Allelen, der teilweise auf die PCR zurückzuführen war, teilweise auf Probleme der Auswertungs-Software. Da bei manchen Allelen keine Informationen über die Intron-Sequenzen und nicht Peptidbindenden in der Referenzdatenbank vorliegen, konnte eine vollständige Validierung nicht durchgeführt werden.

Schlussfolgerung: Die Typisierung von vollständigen HLA Genen auf einer Routinebasis ist mit NGS möglich geworden. Es empfiehlt sich jedoch, bei Vorhandensein nur eines Allels eine alternative Typisierungsmethode einzusetzen. Verbesserungen im Primerdesign, und in der Auswertungssoftware sind weiterhin notwendig. Die klinische Relevanz von Übereinstimmungen bzw., Nicht-Übereinstimmungen der bisher nicht in Betracht gezogenen polymorphen Abschnitte (Promotoren, Introns, Exons, welche nicht-Peptidbindende Regionen codieren) für die Transplantation bleibt zu untersuchen.

008 FILGRASTIM- VERSUS CHEMOTHERAPY-BASED AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC STEM CELL MOBILIZATION IN THE SETTING OF PREEMPTIVE ('JUST-IN-TIME') PLERIXAFOR: PRELIMINARY DATA OF A NON-INTERVENTIONAL STUDY

N. Worel¹, H. Agis², N. Zojer³, G. Leitner¹, H. Kaspar⁴, V. Mayer⁵, E. Ulsperger⁶, R. Ruckser⁷, F. Keif⁸, H.T. Greinix⁹¹University Klinik für Blutgruppenserologie und Transfusionsmedizin;²University Klinik für Innere Medizin I, Medizinische Universität Wien;³Wilhelminenspital, 1. Medizinische Abteilung, Wien; ⁴Krankenhaus der Elisabethinen, Hämatologie und Onkologie, Linz; ⁵Landesklinikum Krems, Innere Medizin Hämato-Onkologie; ⁶Krankenhaus Lainz, 5. Medizinische Abteilung, Wien; ⁷SMZ Ost, 2. Medizinische Abteilung, Wien; ⁸Hanusch Krankenhaus, 3. medizinische Abteilung Hämatologie, Wien; ⁹University Klinik für Innere Medizin I, KMT, Medizinische Universität Wien

Background: Mobilized peripheral blood stem cells (HSCs) are the preferred graft for autologous stem cell transplantation (ASCT). The use of cytokines, alone or in combination with chemotherapy, is the most common strategy to collect HSCs. However, a significant proportion of patients is hard-to-mobilize and fail to proceed to ASCT. Plerixafor (P) has recently been introduced to enhance HSC mobilization and has been shown to be more effective than G-CSF alone in patients with multiple myeloma (MM) or non-Hodgkin's lymphoma (NHL). Data on combining plerixafor with chemotherapy plus G-CSF in patients who mobilize poorly are limited. Recent studies showed that plerixafor, when given preemptively, was able to avoid a second mobilization attempt. The aim of this non-interventional, prospective, study was to observe the efficacy of a preemptive (just-in-time) use of plerixafor after G-CSF (GP) or chemomobilization (GCP) in terms to achieve $>2 \times 10^6/\text{kg}$ CD34+ cells, thus, enabling patients to be eligible for ASCT.

Methods: Between June 2012 and April 2014, 66 patients with MM ($n = 41$), NHL ($n = 22$) or Hodgkin's disease (HD, $n = 3$) who mobilized poorly after G-CSF (52%; GP group) or chemomobilization (48%; CGP group) were included. The GP group received plerixafor on day 4 of G-CSF and the CGP group on the anticipated collection day if CD34+ cells were $<20/\mu\text{l}$. The majority of patients underwent large volume apheresis processing 3.5–4 times total blood volume.

Results: A total of 77 mobilization regimens were applied. With the preemptive use of P it was possible to collect sufficient HSC in 60 of 66 (91%) patients. Nine patients underwent a second mobilization attempt due to insufficient collection $n = 5$, need for a second transplant $n = 3$, technical problems during cryopreservation $n = 1$. One patient had 3 mobilization attempts to aim the target cell dose. The mean amount of PB CD34+ cells before P was 6.8 (SD ± 5 ; range 0–19.7) for all patients and did not differ between GP (6.0 ± 5 ; range 0–19.7) or CGP (7.6 ± 5 ; 0.7–17.0), respectively. After P, PB CD34+ cells showed a marked increase with a mean of $29.6/\mu\text{l}$ (SD 27; range 1.6–175.0) for all patients and was not different between GP (30.0 ± 22 range 2.3–83.7) or CGP (29.3 ± 31 ; 1.6–175.0). An average of 1.7 ± 0.8 (range 1–4) P injections had to be given to the patients during one mobilization to collect a mean amount of 4.6 (± 4.0 ; range 0.4–31.34) $\times 10^9/\text{kg}$ CD34+ cells and did not differ between the GP and GCP group.

Conclusion: In conclusion, circulating CD34+ cell counts can be significantly increased with P after G-CSF or chemomobilization, showing no advantage for a particular regimen (GP vs. CGP) and the majority of patients considered difficult to mobilize can be successfully collected. Possible differences in graft composition depending of the mobilization regimen used (GP vs. CGP), and an influence on time to engraftment, immune reconstitution and risk of relapse after ASCT needs to be evaluated in further studies.

009 MOLECULAR DETECTION OF VIRUSES IN GASTROINTESTINAL BIOPSIES OF ALLOGENEIC STEM CELL TRANSPLANT RECIPIENTS: A SINGLE CENTER 4 YEAR EXPERIENCE

Heidrun Kerschner¹, Alexandra Böhm², Hedwig Kaspar²,Ansgar Weltermann², Petra Apfalter¹¹Institute for Hygiene, Microbiology and Tropical Medicine, ElisabethinenHospital, Linz, Austria; ²Internal Medicine I, Department for Hematology,

Oncology and Stem cell transplantation, Elisabethinen Hospital, Linz, Austria

Objectives: Gastrointestinal complications occur frequently after allogeneic stem cell transplantation (allo-SCT). Two of the main differential diagnoses are graft-versus-host disease (GvHD) and viral infections. In this retrospective study, we analyzed the detection rates of viral nucleic acids in upper and lower gastrointestinal tract biopsies of patients during the first year after allo-SCT taken between January 2010 and January 2014.

Methods: All gastrointestinal biopsies from allo-SCT recipients that had been analyzed by PCR for the presence of viral nucleic acid were identified retrospectively for data analysis. Samples taken within one week were subsampled as one clinical episode. Available PCR tests included: Herpes simplex Virus 1 and 2, Cytomegalovirus, Epstein Barr Virus, Human Herpes Virus 6, Varicella Zoster Virus, Adenovirus, Enterovirus, Norovirus and Parvovirus, which were ordered individually for each patient at the attending physician's discretion. Test results were retrieved from the microbiology laboratory information system and patient data was obtained by chart review. Data analysis was done with Excel 2010 and SPSS Statistics 22.

Results: Between January 2010 and January 2014, 143 gastrointestinal biopsy samples of 59 allo-SCT recipients (demographic data: Table 1) from the first 365 days after transplantation were received for PCR analysis. Biopsies were taken a median of 57 days after SCT (range: 14–360) and the number of samples per patient ranged from 1 to 10. Eighty-two (57%) of the samples were

Table 1: Demographic data

	n (%)
Gender	
Male	36 (61.0)
Female	23 (39.0)
Age at SCT, years	
Median (range)	51 (19–68)
Diagnose	
AML	29 (49.2)
MPD	9 (15.3)
ALL	6 (10.2)
MDS	6 (10.2)
Other	9 (15.3)
Donor type	
HLA identical sibling	22 (37.3)
HLA mismatched unrelated	18 (30.5)
HLA matched unrelated	16 (27.1)
Cord blood	3 (5.1)
Conditioning regimen	
Myeloablative, no TBI	16 (27.1)
Myeloablative plus TBI	6 (10.2)
Reduced intensity, no TBI	31 (52.5)
Reduced intensity, plus TBI	6 (10.2)
CMV D/R status	
D+R+	18 (30.5)
D+R–	4 (6.8)
D–R+	18 (30.5)
D–R–	19 (32.2)

Table 2: PCR tests done on the 143 gastrointestinal biopsies and positivity rates

PCR	n done (%)	Positive (%)
Adenovirus DNA	109 (76.2)	3 (2.8)
CMV DNA	138 (96.5)	29 (21.0)
Enterovirus RNA	94 (65.7)	0
EBV DNA	122 (85.3)	41 (33.6)
HSV 1 DNA	116 (81.1)	9 (7.8)
HSV 2 DNA	116 (81.1)	0
HHV 6 DNA	109 (76.2)	54 (49.5)
Norovirus RNA	3 (2.1)	0
Parvovirus DNA	19 (13.3)	5 (26.3)
VZV DNA	95 (66.4)	0

obtained during gastroscopy and 61 (43%) samples came from the lower gastrointestinal tract.

Ordering rates for the various PCR tests were heterogeneous - the distribution of ordered tests and their positivity rates are shown in table 2. Overall, the proportion of samples with at least one positive PCR result was 67.8% ($n = 97$).

When samples taken within one week were grouped together, a total of 96 clinical episodes (1 to 4 biopsies per episode) were identified. Analysis of the clinical action taken showed that viral disease with or without concomitant GvHD was regarded as causative in 12 of the 96 episodes (12.5%). The twelve episodes concerned eight individual patients with the following viral etiologies: HSV-1 esophagitis ($n = 5$, one with concomitant CMV esophagitis), CMV colitis and/or ileitis ($n = 4$), EBV detection with concomitant high EBV loads in whole blood leading to preemptive therapy with rituximab ($n = 2$, one with histologic detection of blast-like cells) and HSV mucositis with detection of HSV-1 DNA in colon mucosa ($n = 1$).

Contrastingly, 51 episodes (53.1%) were considered exclusively as GvHD, and 33 episodes (34.4%) were judged as neither GvHD- nor virus-related. Overall PCR positivity rates, especially those of HHV6, were significantly higher in biopsies taken during GvHD episodes than in those taken during GvHD- or virus-unrelated episodes ($P = 0.002$, Chi square test).

Conclusion: While gastrointestinal GvHD is often diagnosed clinically, PCR analysis of biopsy specimens is important for the detection of viruses that cause intestinal pathologies or might be associated with GvHD. Introduction of a basic PCR panel for gastrointestinal biopsies of allo-SCT recipients could be useful to ensure comprehensive diagnostics.

010

CD3/CD19-DEPLETIERTE UND CD3/TCR- α/β -DEPLETIERTE PERIPHERE STAMMZELLTRANSPLANTATION NACH KONDITIONIERUNG MIT THIOTEPA, FLUDARABIN, TREOSULFAN UND ATG BEI ANGEBORENEN STOFFWECHSELSTÖRUNGEN

Daniela Sperl¹, Wolfgang Schwinger¹, Petra Sovinz¹, Martin Benesch¹, Herwig Lackner¹, Markus Seidel¹, Volker Strenger¹, Andrea Raicht¹, Michaela Brunner-Krainz², Eduard Paschke³, Barbara Plecko^{2,4}, Christian Urban¹

¹Abteilung für pädiatrische Hämatologie/Onkologie; ²Abteilung für Allgemeine Pädiatrie/Neuropädiatrie und angeborene Stoffwechselstörungen; ³Labor für Stoffwechselerkrankungen; Abteilung für Pädiatrie und Adoleszenten Medizin, Medizinische Universität Graz, Österreich; ⁴Kinderspital Zürich, Abteilung für Neuropädiatrie; Universitätskinderkliniken Zürich, Schweiz

Hintergrund: Für Patienten mit Mucopolysaccharidose Typ IH (MPS1-H; Hurler Syndrom) und metachromatischer Leukodystrophie (MLD), ist eine frühe allogene hämatopoietische Stammzelltransplantation (SCTX) die Behandlung der Wahl.

Patienten/Methoden: Ein Bub und ein Mädchen, 20.5 und 22 Monate alt, mit MPS1-H und ein 18 jähriges Mädchen mit MLD erhielten ein Konditionierungsregime mit Thiotepa, Fludarabin, Treosulfan und ATG. Die ersten zwei erhielten periphere Blutstammzellen von unverwandten Spendern (10/12 und 11/11 matched), die durch CD3/CD19-Depletion manipuliert wurden. Das

18 jährige Mädchen mit MLD erhielt periphere Blutstammzellen von einem verwandten HLA-identen Spender nach vorangegangener CD3/TCR- α/β -Depletion.

Ergebnisse: Alle drei Patienten zeigten ein stabiles hämatopoietisches Engraftment und einen stabilen Donor Chimerismus. Es traten bisher weder eine akute noch eine chronische GVHD oder andere schwere transplantationsbedingte Komplikationen auf. Alle drei Patienten leben bei einem Follow-up von 48, 37 und zwei Monaten, und sind in gutem Allgemeinzustand. Die beiden Kinder mit MPS-1 zeigen schon jetzt eine deutliche neurologische Verbesserung und eine Normalisierung der Harn-Glykosamin Ausscheidung. Die Patientin mit MLD zeigte bereits einen Monat nach SCTX normale Arylsulfatase-A Werte im EDTA Blut, betreffend des neurokognitiven Zustandes erfolgte bisher keine weitere Verschlechterung im Vergleich zu vor der Transplantation.

Schlussfolgerung: Eine Treosulfan-basierte Konditionierung hat den Vorteil einer reduzierten Toxizität.

Die Verwendung von CD3/CD19-depletierten oder CD3/TCR- α/β -depletieren peripheren Stammzellen erlaubt eine Transfusion einer hohen CD34+ Zellzahl gemeinsam mit einer "maßgeschneiderten" CD3+ Zellzahl sowie auch die Transfusion Engraftment-erleichternder Zellen um ein schnelles hämatopoietisches Engraftment zu erreichen. Gleichzeitig wird dadurch das Risiko von Graft-Abstoßung und GVHD vermindert. Dieses Regime könnte eine zusätzliche Option sein, wenn eine hämatopoietische Stammzelltransplantation bei Patienten mit angeborenen Stoffwechselstörungen in Erwägung gezogen wird.

011

ERFOLGREICHE FREMDSPENDER-STAMMZELLTRANSPLANTATION BEI KONGENITALER AML FAB M5 MIT T(9;11), INITIALER HYPERLEUKOZYTÖSE, ZNS-BEFALL UND LEUKAEMIA CUTIS

Sofia Lanz¹, Petra Sovinz¹, Herwig Lackner¹, Martin Benesch¹, Markus Seidel¹, Bernhard Resch², Berndt Urlesberger², Wolfgang Schwinger¹, Christian Urban¹

¹Klinische Abteilung für Pädiatrische Hämatologie/Onkologie; ²Klinische Abteilung für Neonatologie, University-Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz, Medizinische Universität Graz

Fragestellung: Eine kongenitale Leukämie ist ein sehr seltenes Ereignis, das ein komplexes interdisziplinäres Management erfordert.

Methodik: Ein reifes makrosomes Neugeborenes präsentierte sich mit blaulividen Hautveränderungen am gesamten Integument, Hepatosplenomegalie und Hyperleukozytose von 596 G/l. Es wurde eine AML FAB M5 mit t(9;11)/MLL/AF9-Rearrangement und ZNS-Befall diagnostiziert. Das Management erfolgte interdisziplinär bis zum 36. Lebenstag an der neonatologischen Intensivstation. Der Patient wurde über insgesamt 29 Tage beatmet. Am 3. Lebenstag wurde die Chemotherapie entsprechend AML-BFM 2004 begonnen (ADxE), danach erfolgte die weitere Therapie mit den Blöcken HAM, AI/2CDA und haM (modifiziert). Zur Remissionskonsolidierung wurde der Patient einer allogenen peripheren Stammzelltransplantation (CD3 TCR α/β -/CD19-Depletion/ CD34 + Selektion) von einem HLA-identen Fremdspender nach Konditionierung mit Baby-FLAMSA unterzogen. Die Aplasiephasen unter Chemotherapie bzw. nach Stammzelltransplantation wurden mit insgesamt 60 Granulozytenkonzentraten überbrückt. Die GVH-Prophylaxe mit Cellcept wurde am Tag +57 in Abwesenheit jeglicher GVH-Zeichen beendet. Ab dem Tag +97 wurde eine AML-Dauertherapie eingeleitet. Serielle SNP-basierte Chimärismusanalysen zeigten, nach zunächst vollständigem Spenderengraftment, eine autologe Rekonstitution der Granulozyten, Monozyten und B-Lymphozyten. T- und NK-Zellen sind weiterhin weitgehend allogener.

Ergebnisse: Nach dem 1. Chemotherapieblock (ADxE) erreichte der Patient eine zytologische und ZNS-Remission, nach dem 2. Chemotherapieblock (HAM) eine molekulargenetische Remission. Der Patient ist aktuell am Tag +210 unter AML-Dauertherapie altersgemäß entwickelt. Er hat einen gemischten Chimärismus, durchflusszytometrische und molekulargenetische Analysen bestätigen eine komplette CR1.

Konklusion: Das Management einer Neugeborenen-AML mit Hyperleukozytose war nur durch die intensive Kooperation zwischen Intensiv-Neonatologie und Hämatologie-Onkologie möglich. Der Patient erreichte unter BFM-Chemotherapie eine 1.CR, die durch eine allogene Stammzelltransplantation und aktuell durch eine AML-Dauertherapie konsolidiert wurde.

THURSDAY, OCTOBER 16, 2014, 14:30–16:00 h
SITZUNG: YOUNG INVESTIGATOR AWARDS

012 THE ROLE OF NK CELLS IN CHIMERISM INDUCED TRANSPLANTATION TOLERANCE

Benedikt Mahr, Nina Pilat, Karin Hock, Christoph Schwarz, Thomas Wekerle
Division of Transplantation, Department of Surgery, Medical University of Vienna, Vienna, Austria

Background: The adoptive transfer of in vitro activated regulatory T cells (Tregs) obviates the need for any cytoreductive conditioning in a costimulation blockade based bone marrow transplantation (BMT) model. Since NK cells mediate costimulation-blockade resistant rejection of bone marrow cells, we presumed that Tregs prevent acute rejection by suppressing NK cells. To verify our hypothesis we used CB6F1 (offspring of a cross between Balb/c females and BL6 males) mice as bone marrow donors. In this combination the inhibitory receptors of the recipient NK cells bind H2^d MHC molecules from the BL6 father and are thus not activated, while T cells are normally activated by H2^d MHC molecules from the mother. Furthermore we analyzed the expression of the activating (Ly49D) and inhibitory receptors (Ly49A/G2) on blood NK cells in successful chimeras that bind H2^d MHC molecules.

Methods: C57BL/6 mice received 20*10⁶ unseparated CB6F1 bone marrow cells and costimulation blockade (anti-CD154mAb, CTLA4-Ig) together with Rapamycin. All recipients received skin grafts and randomly selected recipients additionally received cardiac grafts from CB6F1 mice, 4 and 6 weeks after BMT, respectively. Receptor expression of peripheral NK cells was analyzed in blood by flow cytometry from established chimeras receiving Balb/c bone marrow.

Results: All BMT recipients developed multilineage chimerism for more than 100 days and specifically deleted donor reactive T cells. Skin and heart allografts are vital heretofore 90 and 70 days. 40% of all NK cells bearing the H2^d specific activating receptor Ly49D in naïve BL6 mice do not express the inhibitory receptors Ly49A/G2 and are therefore activated by BalbC donor cells. This population decreases to 5% in established chimeras treated with costimulation-blockade, Rapamycin and in vitro activated Tregs. Interestingly mice conditioned with 3 Gy total body irradiation (TBI) and co-stimulation blockade exhibited 15% donor reactive NK cells despite higher levels of chimerism.

Conclusion: Our results support the notion that adoptively transferred Tregs suppress costimulation-blockade resistant NK cells and thereby allow bone marrow engraftment. Besides we suggest that donor specific NK cells adapt to the donor tissue in established chimeras as a subject of BMT conditioning.

013 TREG TREATMENTS PREVENTS CHRONIC REJECTION INDUCED BY NON-MHC ANTIGENS

Pilat Nina¹, Mahr Benedikt¹, Kristo Ivan¹, Schwarz Christoph, Hock Karin¹, Mayerhoffer Sophie¹, Wrba Fritz², Wekerle Thomas¹

¹Department of Surgery, Medical University of Vienna, Vienna, Austria;
²Institute of Pathology, Medical University of Vienna, Vienna, Austria

Induction of donor-specific tolerance via the mixed chimerism approach is a potent tolerance approach which was shown to be successful in humans. Notably, although chimerism leads to longterm heart allograft survival and prevents acute rejection, allografts show signs of chronic rejection and tissue damage in some models. Recently, we could show that therapeutic administration of activated polyclonal Tregs improves outcome of heart allografts in mixed chimeras despite the need for less recipient conditioning. Mixed chimeras induced with non-myeloablative irradiation and costimulation blockade show indefinite survival of fully mismatched skin and heart allografts, however, the majority of both, skin and heart allografts present with signs of chronic rejection late after transplantation (>100 days post skin/heart transplantation). We hypothesized that Treg treatment prevents chronic rejection induced by minor (tissue specific) antigens.

Groups of mice treated with non-myeloablative (3 Gy) TBI or a therapeutic Treg dose received a dose of fully-mismatched (Balb/c, H2d into B6, H2b) BM under the cover of costimulation blockade. Multi-lineage chimerism and deletion of donor-reactive T cells was followed by flow-cytometry. Tolerance was assessed by skin and heart transplantation from either Balb/c (MHC+minor mismatch) or B10.D2 (MHC mismatch only) donors.

Durable multilineage chimerism was achieved with both regimens, with substantially higher chimerism levels in the group receiving irradiation (e.g. myeloid chimerism 5.75% 0 Gy Tregs vs. 69.73% 3 Gy, $P < 0.0001$, 3 months post BMT). Central and peripheral deletion of donor-reactive T cells was almost complete in 3 Gy chimeras but not in Treg chimeras. Interestingly, donor specific skin and heart allografts from Treg treated mice were devoid of signs of chronic rejection, however, there was a striking difference between Balb/c and B10.D2 grafts in the 3 Gy TBI group ($P = 0.023$). Balb/c cardiac grafts present with interstitial fibrosis, vasculitis and myointimal thickening and skin grafts show massive leucocyte infiltrates and atrophy of epidermis, whereas B10.D2 grafts resemble grafts from Treg chimeras or syngeneic controls.

We could show that chronic rejection in a non-myeloablative mixed chimerism model is caused by minor antigen mismatch. These data suggest that Treg treatment induced regulatory mechanisms are superior to models relying mainly on deletional tolerance mechanisms.

014 BLOCKING IL-17 PREVENTS THE MORE POTENT IMMUNE- RESPONSE AFTER TRANSPLANTATION OF OLD CARDIAC ALLOGRAFTS

R. Oberhuber^{1,2}, H. Rodriguez Cetina¹, O. Boenisch¹, T. Heinbokel¹, K. Hock^{1,3}, H. Li¹, G. Liu¹, A. Elkhali¹, J. Pratschke², S.G. Tullius¹

¹Division of Transplant Surgery, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, USA; ²Medical University Innsbruck, Department of Visceral, Transplant and Thoracic Surgery, Innsbruck, Austria; ³Division of Transplantation, Vienna Medical University, Vienna, Austria

Transplantation of older organs has become common practice. At the same time, organ age has been linked to compromised outcomes and an augmented immunogenicity. We hypothesized that IL-17 is playing a critical role in the immune response towards older grafts. Hearts from young (3 months) or old (18 months) C57BL/6 mice were transplanted into young (3 months) wild-type (DBA/2) or IL-17^{-/-} mice and assessed serially.

Older C57BL/6 hearts were rejected significantly faster and demonstrated more advanced structural changes evident by higher ISHLT rejection scores in addition to higher rates of intragraft CD4+ and CD8+ lymphocytes. Of note, older allografts revealed significantly higher levels of IL-17 mRNA. Systemic treatment of recipients with anti-IL-17A prior to the engraftment of old cardiac allografts resulted in a significantly prolonged survival and eliminated the previously observed organ-age dependent survival differences. Moreover, survival of older C57BL/6 hearts transplanted into IL-17^{-/-} mice prolonged survival beyond that of young hearts in WT animals. To further analyze the mechanisms for IL-17 release, we studied the involvement of Dendritic cells (DCs) by depleting cardiac DCs using liposomal clodronate; after depletion we found that survival rates and rejection score of young and old hearts were comparable. Noteworthy, the recipients' immune response was independent of organ age. Moreover, IL-17 mRNA levels were significantly reduced in old allografts after DCs depletion reaching levels comparable to those in hearts from young donors.

Older organs are rejected more rapidly. Blocking IL-17 in recipients eliminates the observed differences organ-age specific differences. Thus targeting IL-17 may be of particular clinical relevance when utilizing older organs.

015 STÖRUNGEN DER EISENHOMÖOSTASE FÜHREN ZU EINER AKZELERATION DER IMMUNANTWORT NACH EXPERIMENTELLER HERZ- UND NIERENTRANSPLANTATION

Thomas Resch¹, Paul Ritschl¹, Cornelia Fabritius¹, Susanne Ebner¹, Julia Günther¹, Anh-Vu Nguyen¹, Rupert Oberhuber¹, Günther Weiss², Johann Pratschke³, Katja Kotsch¹

¹Universitätsklinik für Visceral-, Transplantations- und Thoraxchirurgie, Innsbruck, Österreich; ²Universitätsklinik für Innere Medizin VI, Innsbruck, Österreich; ³Universitätsklinik für Allgemein-, Visceral- und Transplantationschirurgie, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Deutschland

Hintergrund: Definierte Parameter des Eisen (Fe) Metabolismus (z.B. Hepcidin) konnten erst kürzlich mit Toleranz nach Lebertransplantation assoziiert werden. Ferner belegen klinische Daten, dass eine Fe-Überladung des Empfängers ein verkürztes Transplantatüberleben nach Herz (HTx) und Nierentransplantation (KTx) bedingt. Die funktionelle Bedeutung des Fe-Metabolismus in der Transplantation solider Organe (SOT) verbleibt allerdings bislang ungeklärt.

Methoden: Zur Klärung des mechanistischen Einflusses einer Fe-Überladung auf einzelne Komponenten des Immunsystems wurden in einem „full mismatch“ Modell der akuten Abstoßung Balb/C (Spender) Herzen oder Nieren auf C67BL/6 Empfängermäuse transplantiert, wobei Empfänger über 28 Tage Fe-supplimentiert wurden. Am Tag 5 nach Transplantation erfolgte die Analyse einzelner Lymphozyten-Subsets mittels Durchflusszytometrie. Fe-Metabolismus assoziierte Marker wurden mittels RT-PCR gemessen.

Ergebnisse: Bei Fe-überladenen Empfängern wiesen HTx und KTx Transplantate eine signifikant vermehrte Infiltration von CD4⁺ T-Lymphozyten auf (HTx: 2.1% vs. HTx+Fe: 6%; KTx: 9.6% vs. KTx+Fe: 18.7%; jeweils $P < 0.01$). Im Gegensatz verringerte sich die Zahl regulatorischer T Zellen (CD3⁺CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T_{Reg}) sowohl im Transplantat als auch in der Milz (T_{Reg} Anteil an CD3⁺CD4⁺ Zellen der Milz: HTx: 3.7% vs. HTx+Fe: 0.6%; KTx: 14.7% vs. HTx+Fe: 9.8%; jeweils $P < 0.01$). Zusätzlich führte eine Fe-Überladung zu einem vermehrten Homing von NK Zellen in Herz- (11.8% vs. 19.4%; $P < 0.05$) und Nierentransplantate (10% vs. 12.8%; $P < 0.05$). HTx wie auch KTx stimulierten in der Milz residente NK Zellen zur Differenzierung von CD11b⁺CD27⁻ hin zu einem CD11b⁺CD27⁺ doppelt positiven Phänotyp, wobei sich der Effekt nach Fe-Überladung maximierte. Ferner zeigte sich die mRNA

Expression des Fe-regulierenden Hormons Hepcidin im Transplantat nach Fe-substitution drastisch erhöht. Analog verhielt sich jene der CD71 (TfR1) und Ferroportin mRNA Expression. Somit zeigt sich eine rasche Adaptation des Transplantates selbst – initial von einem gesunden Spender entnommen – an die Fe-Überladung des Empfängers.

Schlussfolgerung: Eine Eisenüberladung im Empfänger resultiert in einer maßgeblichen Beeinträchtigung der Immunantwort auf das Transplantat nach HTx sowie KTx. Dies erfolgt im Sinne einer beschleunigten CD4⁺ und NK Zell Infiltration, Alteration der NK Zell Reifung und simultanen Depletion regulatorischer T Zellen.

016 CHRONISCH LICHENOIDE GRAFT-VERSUS-HOST DISEASE DER HAUT: EINE TH1/TH17-MEDIIERTE ERKRANKUNG?

Marie-Charlotte Brügggen¹, Peter Petzelbauer², Hildegard Greinix³, Irene Klein¹, Wolfgang Bauer¹, Werner Rabitsch³, Zoya Kuzmina³, Peter Kalhs³, Robert Knobler⁴, Georg Stingl¹, Georg Stary^{1,5}

¹Universitätsklinik für Dermatologie, Abteilung für Immunodermatologie und Infektiöse Hautkrankheiten, Medizinische Universität Wien, Österreich;

²Universitätsklinik für Dermatologie, Abteilung für Haut- und Endothelialforschung, Medizinische Universität Wien, Österreich;

³Universitätsklinik für Innere Medizin I, Knochenmarkstransplantation,

Medizinische Universität Wien, Österreich; ⁴Universitätsklinik für Dermatologie, Abteilung für Allgemeine Dermatologie, Medizinische Universität Wien, Österreich; ⁵Harvard Medical School, Institut für Mikrobiologie und Immunbiologie, Abteilung für Immunologie, Boston, MA, USA

Hintergrund: Die Haut ist das am häufigsten betroffene Zielorgan der Graft-versus-Host Disease (GVHD). Hautveränderungen in der GVHD können akuter, chronisch lichenoider oder chronisch sklerotischer Natur sein (aGVHD, cGVHD, csGVHD).

Ziel dieser Studie war es, die zellulären/molekularen Signaturen der verschiedenen Arten der GVHD zu charakterisieren und somit Einblick in die Pathogenese zu gewinnen. In diesem Zusammenhang haben wir auch die kutane Expression des als plasmatischer aGVHD-Biomarker-Kandidat identifizierten Moleküls Elafin untersucht. Dabei interessierte uns insbesondere, ob die Expression von Elafin in der GVHD mit dem Schweregrad oder einer ungünstigen Prognose korrelierte.

Methoden: Wir haben Hautbiopsien von 25 aGVHD-, 17 cGVHD- und 7 csGVHD-Patienten gesammelt und das zelluläre Infiltrat (Immunofluoreszenz), die mRNA-Expression (quantitative rt-PCR) von potentiellen Effektormolekülen (Zytokine, Chemokine, zytotoxische Mediatoren), sowie Zytokinprofile von T-Zellen (FACS) untersucht. Die Expression von Elafin in der Haut und die Assoziation mit prognostischen Parametern (3-Jahres-Überleben, Kortikosteroid-Ansprechen) sowie dem histopathologischen/klinischen Schweregrad wurden analysiert (IBM SPSS Statistics).

Ergebnisse: Die cGVHD zeichnete sich, im Gegensatz zur aGVHD, wo sich eine Th2-/Th22-Signatur (Th2-Zytokine/IL22 und IL-22+ CD4-positive T-Zellen, Th2-Chemokine) zeigte, durch die Infiltration von IFN γ - und IL-17-positiven CD8-positiven T-Zellen sowie eine starke Hochregulation von Th1-/Th17-Zytokinen (IFN γ , IL-12/IL-23p40, IL-23p19, IL-17A) sowie Th1-Chemokinen aus. Die csGVHD zeigte ebenfalls Zeichen einer Th1-Antwort (IFN γ und Th1-Chemokine), jedoch weniger ausgeprägt als die cGVHD.

Die Expression des von Keratinozyten produzierten Elastase-Inhibitors Elafin war in der cGVHD höher als in der aGVHD und in der csGVHD nicht detektierbar. In cGVHD-Hautläsionen mit starker Elafin-Expression (bei 9/15 Patienten) zeigte sich im Vergleich zu cGVHD-Hautläsionen mit schwacher Elafin-Expression, dass IL-10 sowie das Elafin-inhibierende Zytokin TGF β herunterreguliert waren. Histopathologisch war in cGVHD-Hautläsionen mit hoher Elafin-Expression eine starke epidermale Verbreiterung und ein stärkeres entzündliches Infiltrat zu beobachten. Klinisch korrelierte hohe Elafin-Expression bei cGVHD-Patienten mit häufiger auftretender Kortikosteroidresistenz.

Schlussfolgerung: Unsere Daten gewähren einen neuen Einblick in die Pathogenese der verschiedenen Arten der kutanen GVHD und weisen darauf hin, dass die Th1- sowie die pro-inflammatorische Th17-Achse in der cGVHD eine wichtige Rolle spielen. Die Expression von Elafin in cGVHD-Hautläsionen könnte mit einer stärkeren inflammatorischen Komponente einhergehen und klinisch, falls prospektive Studien dies bestätigen werden, als prognostischer Marker für Kortikosteroidresistenz eingesetzt werden.

017

EINE NIERENTRANSPANTATION KANN SICH POSITIV AUF DIE FUNKTION NEUTROPHILER GRANULOZYTEN UND DEN OXIDATIVEN STRESS AUSWIRKEN

Sandra Lemesch¹, Bettina Leber², Werner Rabitsch³, Gernot Schilcher³, Angela Horvath¹, Hildegard Hafner-Giebauf³, Walter Spindelboeck¹, Lisa Pasterk⁴, Gunther Marsche⁴, Gabriele Zettel², Monika Tawdrous¹, Alexander Rosenkranz³, Vanessa Stadlbauer¹

¹Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie; ²Abteilung für Transplantationschirurgie; ³Klinische Abteilung für Nephrologie; ⁴Institut für Pharmakologie, Medizinischen Universität Graz, Österreich

Hintergrund: Im Jahr 2012 benötigen 8655 Menschen in Österreich eine Nierenersatztherapie (Hämodialyse (HD) oder Nierentransplantation (NTX)). Die Sterblichkeitsrate bei Patienten mit einer Nierenersatztherapie liegt bei 20% pro Jahr. Eine mögliche Ursache könnte eine vermehrte Einschwemmung von bakteriellen Produkten aufgrund einer erhöhten Darmpermeabilität sein, die durch oxidativen Stress zu einer gestörten Immunfunktion und erhöhter Infektnegung führt. Wir untersuchten, ob sich die NTX im Vergleich zur HD positiv auf Parameter der Neutrophilenfunktion, des oxidativen Stress sowie Entzündungsmarker und Darmpermeabilität auswirkt.

Methoden: Es wurden HD-Patienten ($n = 32$) und Patienten nach NTX ($n = 67$) sowie gesunde Kontrollen (Ctrl, $n = 36$) untersucht. Die Neutrophilenfunktion wurde mittels Flowzytometrie analysiert, Advanced Oxidation Protein Products (AOPP; Marker für oxidativen Stress) wurden photometrisch bestimmt. Als Entzündungsmarker wurden C-reaktives Protein (CRP) durch Immunoturbidimetrie, Lipopolysaccharid-binde Protein (LBP) und lösliches (s) CD14 mittels ELISA bestimmt. Diamine Oxidase (DAO; Marker für Darmpermeabilität) wurde mittels ELISA bestimmt.

Ergebnisse: Die Phagozytosekapazität der Neutrophilen war in der HD-Gruppe signifikant niedriger verglichen zu Ctrl und normalisierte sich nach NTX wieder. Die Burstkapazität der neutrophilen Granulozyten war bei den Patienten verglichen zu den Ctrl minimal erniedrigt. AOPPs waren in beiden Patientengruppen im Vergleich zu Ctrl signifikant erhöht, allerdings nach NTX deutlich geringer als unter HD. DAO-Werte waren bei Patienten signifikant höher als in den Ctrl. So war auch CRP, LBP und sCD14 in beiden Patientengruppen verglichen zur Ctrl-Gruppe signifikant erhöht. sCD14 war allerdings nach NTX signifikant niedriger als bei HD.

Schlussfolgerung: Unsere Studie deutet darauf hin, dass die Einschränkung in der Phagozytosefunktion der Neutrophilen unter HD, die möglicherweise für ein erhöhtes Infektionsrisiko verantwortlich ist, nach NTX wieder reversibel ist. Ebenso weisen Patienten nach NTX deutlich weniger oxidativen Stress auf. Die Darmpermeabilität, CRP und LBP blieben nach NTX unverändert hoch, während sich sCD14 nach NTX verbesserten. Zusammenfassend sind nach NTX Surrogat-Parameter für die unter HD eingeschränkter Neutrophilenphagozytose, oxidativen Stress und Einschwemmung bakterieller Produkte teilweise reversibel.

Tabelle 1 zeigt Patienten mit Nierenersatztherapie (Hämodialyse (HD) oder Nierentransplantation (NTX)) sowie gesunde Kontrollen (Ctrl). Die Daten sind als Median; Interquartilbereich dargestellt. ^a $P < 0.001$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.05$ Signifikanz zu Ctrl. ^A $P < 0.001$, ^B $P < 0.01$, ^C $P < 0.05$ Signifikanz zwischen HD und NTX.

Parameter		CTRL	HD	NTX
Phagozytose	[-faches der Ctrl]	1,0; 0,5	0,8; 0,4 ^{a,A}	1,1; 0,8 ^A
oxidativer Burst	[%]	99,2; 0,9	93,9; 7,7 ^{a,A}	98,1; 5,6 ^C
AOPP	[μ mol/l]	30,7; 13,4	90,5; 50,2 ^{a,A}	52,9; 35,5 ^{a,A}
DAO	[μ g/ml]	20,9; 14,4	31,9; 23,0 ^a	32,2; 18,4 ^a
CRP	[mg/l]	1,4; 1,7	7,4; 12,7 ^b	2,3; 3,9 ^C
LBP	[μ g/ml]	16,7; 16,1	28,3; 26,3 ^a	26,9; 18,8 ^a
sCD14	[ng/ml]	1,5; 0,7	3,3; 1,6 ^{a,A}	2,3; 0,9 ^{a,A}

018 HABEN PRÄFORMIERTE DSA EINFLUSS AUF DAS 1- UND 2 JAHRES SURVIVAL NACH LUNGENTRANSPANTATION?

Anna Natmessnig¹, Peter Jaksch¹, Gabriella Muraközy¹, Alexis Slama¹, Stephanie Wallner¹, Daniela Koren², Gottfried Fischer², Walter Klepetko¹

¹Klinische Abteilung für Thoraxchirurgie AKH Wien; ²Klinische Abteilung für Blutgruppenserologie und Transfusionsmedizin AKH Wien

Hintergrund: Der Einfluss von präformierten Donor spezifischen Antikörpern (DSA) auf das Überleben nach einer Lungentransplantation ist nicht vollständig geklärt. An unserem Zentrum werden diese seit Anfang 2012 unmittelbar vor der Lungentransplant zum Screening erhoben.

Methodik: Es wurde eine Datenanalyse anhand der prospektiven Lungentransplantationsdatenbank durchgeführt. Das Patientenkollektiv mit den präformierten DSA (Gruppe 1) wurde der Gruppe ohne präformierte Antikörper (Gruppe 2) gegenübergestellt. Die Blutabnahme erfolgte unmittelbar vor der Lungentransplantation und wurde mittels Luminex Single Antigen Technologie auf präformierte Antikörper untersucht. Die Daten sind als Gruppe 1 vs. Gruppe 2 angegeben und ein *P*-Wert <0,05 wurde als statistisch signifikant angesehen.

Ergebnisse: Von 01/2012 bis 05/2016 wurden 283 Transplantationen durchgeführt. 264 (93,2%) Patienten wurden effektiv auf präformierte DSA gescreent. Von diesen Patienten wiesen 45 (17%, Gruppe 1) präformierte DSA auf. Bei 219 Patienten (82,9%, Gruppe 2) konnten keine Antikörper nachgewiesen werden. Bezüglich des Geschlechts zeigte sich ein statistischer signifikanter Unterschied, 22% der Frauen (*n* = 28) und 12% der Männer (*n* = 17) wiesen einen positiven DSA Befund prä Tx auf. (*P* = 0,034). Es konnte kein signifikanter Unterschied bezüglich des Alters bei Lungentransplantation (46 ± 16a vs. 43 ± 15a) und Grunderkrankung welche zur Transplantation führte festgestellt werden. Im Bezug auf die Überlebensrate nach einer Lungentransplantation fand sich ebenfalls keine statistische Signifikanz zwischen den beiden Gruppen. Die 1-Jahres Überlebensrate betrug 87.7% vs. 84.1% bzw. die 2-Jahres Überlebensrate 79.7% vs. 78.5% (*P* = 0,89).

Conclusio: Präformierte Antikörper haben laut unserem Vergleich keinen Einfluss auf das Überleben in den ersten 2 Jahren nach Lungentransplantation. Aufgrund des beobachteten kurzzeitigen follow-ups sind die bisherigen Daten bezüglich der Entwicklung einer BOS noch nicht aussagekräftig genug. Es konnte jedoch eine deutliche höhere Inzidenz von präformierten Antikörpern bei Frauen nachgewiesen werden. Durch ein längeres Follow-Up, ein größeres Patientenkollektiv, prä-Transplant Screening auf non-HLA spezifische Antikörper und Quantifizierung der MFI erwarten wir uns bessere Einblicke in die Relevanz der präformierten DSA zu erlangen.

019 LONG-TERM OUTCOME OF SIROLIMUS (SRL) BASED IMMUNOSUPPRESSION (IS) IN HEART TRANSPLANT PATIENTS

Stephanie Wallner¹, Arezu Aliabadi¹, Daniela Dunkler², Keziban Uyanik-Uenal¹, Stephane Mahr¹, Johannes Goekler¹, Guenther Laufer¹, Andreas Zuckermann¹

¹Department of Cardiac Surgery, Vienna; ²Department of Medical Statistics, Vienna

Background: SRL based calcineurin inhibitor (CNI)-free IS has been reported to be beneficial in heart transplant patients suffering from CNI toxicities. However, only short-term results have been published and little is known about long-term effects of this concept. The aim of this study was to analyse long-term outcomes and tolerability of CNI-free SRL based IS.

Methods: Patient data, cause of conversion, side effects, biopsy data, renal function and re-conversion to CNI were prospectively entered into our database and retrospectively analysed. Patients had at least 12 months follow-up. Survival, freedom from different side effects and freedom from re-conversion were calculated by Kaplan-Meier analysis. Side effects were calculated by average and standard deviation.

Results: Between 2002–2012, a total of 177 patients were converted from CNI to Srl. 119 (67%) patients were converted to SRL+MMF+steroids, 44 (25%) to SRL+MMF, 6 (4%) to SRL, and 4 (2%) each to SRL+steroids and SRL+Aza+Steroids. 161 (91%) patients were male with an median age of 61.3 (25–75%: 55.1–66.4) years. The switch was performed at a median of 81.8 (41.1–138.3) months post transplantation. Median follow-up was 44.3 (14.5–70.8) months post switch. Overall survival was 73.7% and 57.1% at 5 and 10 years post switch respectively. Survival of patients without re-conversion to CNI was 68.1% and 52.1% at 5 and 10 years post switch. Freedom from re-conversion to CNI was 84.1%, 62% and 34.9% at 1, 5 and 10 years post switch. Median creatinine (pre-switch: 1.54 mg/dl, year 1: 1.49, year 5: 1.52, year 10: 1.52) and GFR (MDRD: pre-switch: 49.7 mg/dl, year 1: 51.8, year 5: 50.9, year 10: 52.4) remained stable during follow-up. 24 (14%) of patients developed >1 g/24 h proteinuria, 14 (8%) patients needed dialysis and 2 (1%) patients received renal transplantation during follow-up. None of the patients developed acute rejection during follow-up. The average number of infections was 1.27 ± 0.54 per patient with pneumonia as the leading infection (27%). 122 (69%) patients developed gastrointestinal side effects, 105 (59%) patients limb edema, 42 (24%) patients skin disorders and 18 (10%) aphthous oral lesions.

Conclusion: SRL based CNI free IS is an effective treatment option with acceptable long-term outcome. However, re-conversion rate is high in long-term follow-up. New strategies to lower side effects need to be investigated.

FRIDAY, OCTOBER 17, 2014, 08.30–10.00 h
SITZUNG: PARALLELSITZUNG 1 (LUNGE)

020 AKTUELLE KLINISCHE ERGEBNISSE NACH EX-VIVO LUNGENPERFUSION (EVLP) VON INITIAL GRENZWERTIGEN SPENDERLUNGEN

Alexis Slama, Lukas Schillab, Maximilian Barta, A. Mitterbauer, K. Hoetzenecker, György Lang, Jose Matilla, Sharokh Taghavi, Peter Jaksch, Walter Klepetko, Clemens Aigner
Abteilung für Thoraxchirurgie, Medizinische Universität Wien, Österreich

Hintergrund: Nach vielversprechenden initialen Ergebnissen mit ex-vivo Lungenerfusion (EVLP) zur Reconditionierung und Re-evaluierung von grenzwertigen Spenderlungen, konnte dieses Verfahren etabliert werden und in die klinische Routine im Rahmen der Lungentransplantation aufgenommen werden. An der Medizinischen Universität Wien wurde das EVLP Programm im März 2010 begonnen und die erste Serie von 13 durchgeführten EVLP wurde im März 2012 publiziert. Hiermit sollen die aktuellen Daten aller im Rahmen dieses Programms durchgeführten ex vivo Lungenerfusionen dargestellt werden.

Methoden: Seit 3/2010 wurden an der MUW 40 EVLP mit initial grenzwertigen Spenderlungen durchgeführt. 27 (Gruppe 1: 67.5%) dieser Spenderlungen erreichten ausreichend gute funktionelle Parameter und wurden aus diesem Grund zur LuTX freigegeben. Sofern nicht anders angegeben werden Mittelwerte beider Gruppen (Gruppe 1 vs. Gruppe 2) \pm Standardabweichung angeführt.

Ergebnisse: Die Arterielle Oxygenierung der Spender lag bei (PaO₂ bei Fio₂ = 100%) 270 \pm 94 vs. 250 \pm 106 mmHg ($P = 0.55$). Ihre Intubationszeit lag bei 5.5 \pm 4.9 vs. 6.9 \pm 4.9 Tage ($P = 0.88$). Sowohl Todesursachen ($P = 0.47$), Spenderalter (37.4 \pm 12.6 vs. 46.5 \pm 11.9 Jahre; $P = 0.055$) und Geschlecht ($P = 0.85$) zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen angenommen und abgelehnten Spenderlungen. Die Dauer der EVLP lag bei 4.7 \pm 1.6 vs. 4.2 \pm 1.3 Stunden ($P = 0.25$). Empfänger einer ex-vivo perfundierten Lunge (Gruppe 1) hatten zur LuTX ein mittleres Alter von 48.5 \pm 13.2 Jahren. 59.3% waren weiblich. Ihre zugrundeliegenden Erkrankungen waren: COPD ($n = 9$; 33.3%), Idiopathische Lungenfibrose ($n = 9$; 33.3%), CF ($n = 6$; 22.2%), Bronchiektasien ($n = 2$; 7.4%) und IPH ($n = 1$; 3.7%). Die Verteilung der durchgeführten Operationen lag bei: Single-LuTX ($n = 1$; 3.7%); DLuTX von ganzen Spenderlungen ($n = 9$; 33.3%), Größenreduzierte DLuTX ($n = 10$; 37%) und lobar DLuTX ($n = 7$; 25.9%). Nach Transplantation lag die mediane Intubationszeit bei 2 (0.4–28) Tagen, die mediane Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation bei 6 (2–30) Tagen und die mediane Gesamtaufenthaltsdauer im Krankenhaus bei 20 (11–84) Tagen. Zum jetzigen Zeitpunkt sind 5 Patienten verstorben; 2 an einer Sepsis (280 und 309 Tage), 2 an Multiorganversagen (26 und 47 Tage) und 1 an plötzlichem Herztod (53 days).

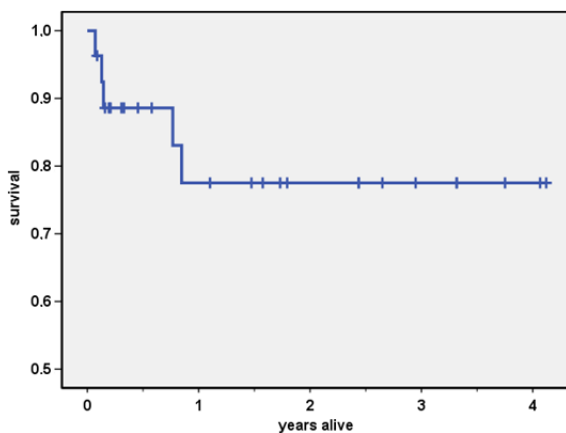


Abbildung: Kaplan Meier Überleben nach ex-vivo Perfusion und Lungentransplantation

021 CMV-PROPHYLAXE NACH LUNGENTRANSPLANTATION

Christoph Krapf
Univ. Klinik Innsbruck, Österreich

No abstract submitted.

022 DYNAMICS OF TORQUE TENO VIRUS DNA LOAD AFTER INITIATION OF IMMUNOSUPPRESSIVE THERAPY IN LUNG TRANSPLANT RECIPIENTS

Peter Jaksch¹, Irene Görzer², Michael Kundl², Tamara Seitz², Walter Klepetko¹, Elisabeth Puchhammer-Stöckl²
¹Department für Thoraxchirurgie, Medizinische Universität Wien; ²Department für Virologie, Medizinische Universität Wien

Background: Torque Teno virus (TTV) is a small single-stranded DNA virus, which is highly prevalent in humans. Persistent TTV DNAemia is frequently observed in healthy individuals and no clear association with specific human diseases has yet been found. Recently, we have reported that lung transplant recipients (LTRs) display high level plasma TTV-DNA levels in relation to the immunosuppressive therapy, and that especially high TTV-DNA load may reflect over-immunosuppression.

Objective: In the present study, we analyzed the effect of the initiation of immunosuppressive therapy on the TTV DNA load dynamics early after lung transplantation.

Methods: Fifty LTRs transplanted between April 2013 and March 2014 were prospectively monitored for plasma TTV-DNA levels by quantitative PCR before transplantation and at regular time points during the first 90 days after transplantation. Patients received standard induction and maintenance therapy.

Results: From initiation of immunosuppressive therapy up to day 10 \pm 3 post-transplantation, 75% of the patients had unchanged TTV load levels while 25% of the patients showed a slight increase in TTV load of > 0.7 log₁₀ copies/ml relative to pre-transplant levels (mean: 3.9 log₁₀ copies/ml; range: 1.7 to 6.4). From day 10 after transplantation the TTV load started to increase in all patients reaching the phase of maximum increase on average between days 20 and 50 post-transplantation. During this phase of exponential increase the mean doubling time of the TTV load was 2.6 days (range: 1.5 to 5.1 days). After day 50 the viral load increase slowed down (mean doubling time: 11.4 days) and relatively stabilized on a mean level of 9.0 log₁₀ copies/ml at about 80 days post-transplantation.

Summary: After initiation of immunosuppressive therapy, the TTV-DNA kinetics appears to undergo a delay phase of about 10 days before the exponential TTV-DNA increase starts in response to therapy. This should be considered when the TTV load is used as a marker reflecting the intensity of post-transplant immunosuppression.

023 INDUKTIONSTHERAPIE MIT ALEMUZUMAB: ERFahrungen NACH 5 JAHREN

Axel Scheed
Med. Uni. Wien, Österreich

No abstract submitted.

024 UPDATE LUNGENTRANSPLANTATION BEI KINDERN UND JUGENDLICHEN IN ÖSTERREICH

Saskia Gruber
Med. Uni. Wien, Österreich

No abstract submitted.

SITZUNG: PARALLELSITZUNG 2 (NIERE)

025

LAPAROSKOPISCHE UND OFFENE LEBENDNIERENSPENDE DER LETZTEN 10 JAHRE AM KH DER ELISABETHINEN LINZ

Axel Krause, Aliaksei Pakhomau, Jürgen Huber, Kerstin Huber, Thomas Schwierz, Reinhold Függer
Chirurgische Abteilung K.H. der Elisabethinen Linz

Hintergrund: Qualitätskontrolle und Etablierung der laparoskopischen Lebendnierenspende in der Transplantregion Nord als sichere Alternative zur offenen Nephrektomie.

Methodik: Retrospektive Analyse von 99 Lebendnierenspenden von 2005-02/2014 hinsichtlich Morbidität und Mortalität mit vergleichender Analyse zwischen offener und laparoskopischer Nephrektomie.

Ergebnis: Die Aufarbeitung der letzten 10 Jahre zeigte bei 99 Lebendspenden die Möglichkeit für eine linksseitige laparoskopische Entnahme bei 79% ($n = 79$). Voraussetzungen dafür waren ein Funktionsverhältnis von >45% zugunsten der linken Seite im Rahmen des Isotopennephrogramms sowie eine solitäre Nierenarterie in der MR – Angiographie. Bei 2 Pat. ergab sich hier eine Diskrepanz von präop. MR zum intraoperativen Situs, welcher in beiden Fällen eine zusätzliche arterielle Versorgung zeigte. Beide Fälle waren in der laparoskopischen Gruppe. Eine Arterie war in 83 Fällen, 2 Arterien in 14 Fällen und 3 Arterien in 2 Fällen vorhanden, wovon hier 5 Fälle laparoskopisch operiert wurden. Unter all unseren Entnahmen zeigte sich ein mittleres Seitenverhältnis von 51,43% zu 48,57% zugunsten der linken Seite. Der BMI lag im Mittel bei 27,8 und die Anzahl der Trokare bei 4, wobei unabhängig vom BMI in 5% ($n = 5$) ein 5ter Trokar zum Einsatz kam. Die Konversionsrate lag bei 0%, die Revisionsrate bei 1% auf Grund eines postoperativen Hämatom. 2 malig war eine postoperative Thoraxdrainage für jeweils 2d notwendig auf Grund eines Pneumothorax. Der Transplantationsverlust liegt bei 2% ($n = 2$), wobei jeweils einer der laparoskopischen Kohorte bzw. einer der offenen zuzuordnen ist. In beiden Fällen wurde am 1.p.o. Tag auf Grund einer Ischämie im Transplantat eine Explantation durchgeführt. Der postoperative Serumkreatinin Spiegel ist in der offen operierten Gruppe bei 1,03 mg/dl vs. 1,13 mg/dl in der laparoskopischen Gruppe. Die 30 Tage Mortalität lag bei 0%.

Schlussfolgerung: In unseren Daten zeigen wir, daß die laparoskopische Lebendnierenspende eine etablierte Methode mit geringer Morbidität ist und eine sichere Alternative zur offenen Spender – Nephrektomie darstellt.

026

PANCREAS TRANSPLANT ALONE IN A PANCREATECTOMIZED PATIENT AFTER A LONG HISTORY OF CHRONIC PANCREATITIS

N. Vallant, C. Bösmüller, F. Aigner, S. Schneeberger, M. Maglione, J. Pratschke, R. Öllinger
Univ. Klinik Innsbruck, Innsbruck, Österreich

Introduction: Pancreas transplantation alone (PTA) figures a growing percentage of overall pancreas transplantations, with 1-year patient and graft survival rates of >94% and 80%, respectively. A successful PTA represents an option to restore normoglycemia in patients with pharmacologically uncontrollable glycemias and therefore, represents one of the rare clinically relevant options for patients after pancreatectomy.

Patient and methods: A 48 year old male patient with a 9-year history of relapsing severe episodes of acute on chronic pancreatitis became insulin dependent after duodenum preserving pancreatic head resection followed by left pancreatic resection and finally total pancreatectomy because of massive pain. Due to Brittle-diabetes, PTA was performed. The pancreas of a 36 year old donor was transplanted with a cold ischemia time of 9 h 19 min, anastomosed to the common iliac artery and to the inferior caval vein. For pancreatic drainage a duodeno-jejunosomy was carried out. Immunosuppression consisted of ATG induction (single shot, 4 mg/kg), Tacrolimus (thorough level 12 ng/dl), MMF and tapered steroids.

Results: Despite immediate organ function 4 relaparotomies because of graft pancreatitis had to be carried out including intraabdominal vacuum treatment and necrosectomies, however, the patient could finally be discharged in excellent condition, with a normal C-peptide and without the need of exogenous insulin nor hypoglycemias. No rejection episode occurred.

Conclusion: PTA after total pancreatectomy is a feasible option for patients with uncontrollable glycemia after pancreatic resection.

027

PANCREAS RE-TRANSPLANTATION: THE INNSBRUCK EXPERIENCE

M. Maglione, S. Gasteiger, M. Biebl, C. Boesmueller, F. Aigner, S. Schneeberger, J. Pratschke, R. Öllinger
Department of Visceral, Transplant and Thoracic Surgery, Innsbruck Medical University, Innsbruck, Austria

Simultaneous pancreas-kidney transplantation (SPK) as well as isolated pancreas transplantation (PT) are valid therapeutic options for selected insulin dependent patients with severe diabetic co-morbidities. However, pancreas re-transplantation (re-PT) following graft failure is controversially discussed.

Retrospective analysis of all transplanted pancreata performed at our institution from 2000 to 2013 revealed 46 re-PT including 16 re-SPK and 30 isolated re-PT. Eight procedures were 3rd PT and two were 4th PT. Induction immunosuppression (anti-thymocyte globuline, alemtuzumab or IL-2R antagonist) was followed by maintenance immunosuppression with steroids, Tacrolimus and MMF. Primary endpoint was 5-year patient and graft survival.

Median waiting time following listing for re-PT was 32 months (range 0–244). Median donor age and median donor body mass index (BMI) were 31 years (range 12–51) and 22.8 kg/m² (range 17.3–29.4), respectively. Median recipient age was 48 years (range 23–59), median BMI 23.4 kg/m² (range 16.9–33.2). Mean cold ischemia time was 14 h (± 3 h). Acute rejection occurred in 11 patients, in 6 of them it resulted in graft loss. Morbidity and early re-laparotomy rates were 78.3% and 34.8%, respectively. After a median follow up of 48 months (range 1–158) patient and graft survival were 92% and 59% at 5 years. Following re-SPK 5-year patient and graft survival were 100% and 78%. In contrast, isolated re-PT resulted in a 5-year patient and graft survival of 96% and 48% ($P = 0.4$ and 0.05 , respectively). 5-year patient and graft survival following 2nd or 3rd/4th PT were not statistically significantly different (93% and 60%, 88% and 44%; $P = 0.7$ and 0.2 , respectively).

Re-PT is a valuable option for patients with failure of the previous graft and results in outcomes comparable to primary PT.

028

PORTAL VERSUS SYSTEMIC VENOUS PANCREAS GRAFT DRAINAGE IN SIMULTANEOUS PANCREAS-KIDNEY TRANSPLANTATION

Mühlbacher Jakob, Niederdöckl Jan, Berlakovich Gabriela, Steininger Rudolf, Mühlbacher Ferdinand, Bodingbauer Martin
Department of Surgery, Medical University of Vienna

Background: Simultaneous pancreas-kidney transplantation offers a potential cure for type 1 diabetic patients with end-stage renal disease. It provides insulin independence, improves quality of life, and reduces secondary complications. Portal venous and systemic venous endocrine drainage are the two techniques to connect the donor pancreas. This study compares the two approaches related to metabolic effects, graft function and survival.

Methods: 21 patients, 10 with portal venous (PV) and 11 with systemic (SV) drainage, who underwent simultaneous pancreas-kidney transplantation (SPK) between October 1994 and October 2013 at our center were retrospectively analyzed.

Results: Both groups were well comparable regarding age, sex, duration of type 1 diabetes, associated comorbidities, cold ischemia time, HLA mismatch and time on waiting list. Mean duration of surgery was significantly higher among patients with portal venous (371 ± 124 min) than those with systemic venous drainage (252 ± 81 min, $P = 0.021$). Within one year after transplantation 14 episodes of rejection were observed, eight patients in the portal venous group (1x pancreas, 7x kidney) compared to six in the systemic venous group (3x pancreas, 3x kidney), however no rejection of both organs in the study population. Twelve month postoperatively no differences were seen in C-peptide, blood glucose levels, HbA1c and insulin independence, no case of hyperinsulinemia was observed. PV-group: One patient became insulin dependent within one year. Two patients died, one after four weeks due to sepsis and the other after five month because of MI with functioning graft. One year patient survival and death censored graft survival for pancreas was 80%. SV-group: Two patients developed insulin dependency, so graft survival for pancreas was 80%, one year patient survival was 100%. There was no documented kidney graft loss in either group.

Conclusion: Simultaneous kidney and pancreas transplantation (SPK) with systemic or portal drainage can be performed with comparable outcomes. After one year no benefit for the portal venous drainage could be demonstrated.

029

KOMPLIKATIONSMANAGEMENT DER DUODENO-DUODENALEN ANASTOMOSE NACH PANKREATRANSPLANTATION

Daniela Kniepeiss, Philipp Stiegler, Helmut Müller, Silvia Schaffellner, Estrella Jakoby, Michael Sereinigg, Florian Iberer
 Klinische Abteilung für Transplantationschirurgie, Universitätsklinik für Chirurgie Graz

Hintergrund: Die Pankreastransplantation hat sich in den letzten Jahren zu einer effektiven Standardtherapie für ausgewählte Patienten mit Typ-1-Diabetes entwickelt. Die chirurgische Technik für die exokrine Ableitung hat sich während der Zeit gewandelt. Zu Beginn wurde die Ableitung in die Harnblase bevorzugt. Derzeit wird vorwiegend die enterale Drainage angewendet, deren größter Nachteil das erschwerte Abstoßungsmonitoring ist.

Methoden: Seit 2008 wird in unserem Zentrum die enterale Drainage als duodeno-duodenale Anastomose durchgeführt. Es handelt sich dabei um eine zweireihige Seit-zu-Seit Anastomose, welche von Hand genäht wird. Das zuvor mobilisierte Colon ascendens wird danach wieder in seine ursprüngliche Position gebracht. Das Pankreas liegt letztendlich retroperitoneal.

Der große Vorteil dieser Methode ist die gute Erreichbarkeit des Grafts durch eine Gastroskopie. Dadurch ist ein relativ einfaches Abstoßungsmonitoring möglich. Der angenommene Nachteil ist das Komplikationsmanagement des Duodenums bei Indikation zur Pankreasexplantation.

Ergebnisse: Bisher sind 18 Patienten mit dieser Methode versorgt worden. Die primäre Graftfunktion war bei 96% der Patienten sehr gut. Die Explantation des Pankreas frühpostoperativ (innerhalb der ersten 2 postoperativen Wochen) war bei 2 Patienten aufgrund einer venösen Thrombose indiziert. Die Rekonstruktion des Duodenums im Bereich der Anastomose war in beiden Fällen problemlos möglich und führte zu keinen Folgekomplikationen. Pankreatitis und Pankreasfisteln kamen nicht vor. Biopsien im Rahmen einer Gastroskopie konnten problemlos durchgeführt werden und so ein einfaches Abstoßungsmonitoring ermöglichen.

Schlussfolgerung: Die Seit-zu-Seit duodeno-duodenale Anastomose bei Pankreastransplantation ist chirurgisch technisch gut möglich. Auch die Versorgung des Duodenums im Fall einer Pankreasexplantation ergab keine zusätzlichen Komplikationen. Der große Vorteil dieser Methode ist das einfache Abstoßungsmonitoring nach Pankreastransplantation. In unserem Zentrum wird die duodeno-duodenale Anastomose zur enteralen Drainage daher bevorzugt.

SITZUNG: PARALLELSITZUNG 3 (IMMUNSUPPRESSION)

030 HAND TRANSPLANTATION AND DER UNIVERSITÄTSKLINIK INNSBRUCK – EIN IMMUNOLOGISCHES UND KLINISCHES UPDATE NACH FÜNF PATIENTEN

Annamarie Weissenbacher¹, Gerhard Pierer², Markus Gabl³, Marina Ninkovic¹, Theresa Hautz¹, Bernhard Zelger⁴, Bettina Zelger⁵, Wolfgang Löscher⁶, Martin Kumnig⁷, Raimund Margreiter¹, Gerald Brandacher⁸, Stefan Schneeberger¹

¹Universitätsklinik für Visceral-, Transplantations- und Thoraxchirurgie, Medizinische Universität Innsbruck, Innsbruck, Österreich; ²Universitätsklinik für Plastische-, Rekonstruktive- und Ästhetische Chirurgie, Medizinische Universität Innsbruck, Innsbruck, Österreich; ³Universitätsklinik für Unfallchirurgie, Medizinische Universität Innsbruck, Innsbruck, Österreich; ⁴Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie, Medizinische Universität Innsbruck, Innsbruck, Österreich; ⁵Pathologisches Institut, Medizinische Universität Innsbruck, Innsbruck, Österreich; ⁶Universitätsklinik für Neurologie, Medizinische Universität Innsbruck, Innsbruck, Österreich; ⁷Department für Medizinische Psychologie, Medizinische Universität Innsbruck, Innsbruck, Österreich; ⁸Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, USA

Hintergrund: Mit diesem Update nach 14, 11, 8, 5 Jahren und 3 Monaten illustrieren wird den klinischen und immunologischen Verlauf von 5 handtransplantierten Patienten.

Patienten: Zwischen März 2000 und März 2014 wurden an 5 Patienten 3 bilaterale Hand-, 1 bilaterale Unterarm- und 1 unilaterale Handtransplantation durchgeführt. Alle Patienten erhielten eine Induktionstherapie. Nach Gabe von ATG oder Alemtuzumab wurde eine Standardimmunsuppression mit Tacrolimus, MMF und Steroiden in einem Taperingschema verabreicht. Nach Erreichen eines stabilen immunologischen Zustandes wurde begonnen den CNi auszuschleichen und simultan durch einen mTOR-Inhibitor (Sirolimus oder Everolimus) zu ersetzen. Steroide konnten bei einem Patienten komplett vermieden werden, bei den anderen 4 Patienten wurden sie nach einem kurzen post-Transplant Intervall ausgeschlichen.

Ergebnisse: Die Funktion der Hände korreliert sehr gut mit dem Zeitraum nach Transplantation und dem Amputationslevel. Die Funktion der intrinsischen Handmuskulatur und eine diskriminative Sensibilität lässt sich an allen 9 Händen detektieren. Komplikationen nach Hand-Tx beinhalten CMV-Infektion, Pilzinfektionen, Hypertonie, Hyperglykämie, Kreatinin-Anstieg, Niereninsuffizienz, Kopfschmerzen und ein bullöses Pemphigoid. Drei, 6, 4 und 2 Abstoßungsreaktionen sind in den ersten 4 Patienten aufgetreten; darunter waren 2 DSA-positive Antikörper-mediierte Abstoßungen, die erfolgreich mit Steroiden, anti-CD25, anti-CD52 und anti-CD20 Antikörper sowie intensiver Basis-Immunsuppression behandelt werden konnten. Die Histologie der Haut zeigt zum aktuellen Zeitpunkt bei keinem der Patienten eine Abstoßungsreaktion. Die Lymphozytenaggregate, welche bei den beiden Patienten mit der DSA-positiven Abstoßung detektiert worden sind, haben sich nach Rituximab-Gabe zurückgebildet. Die Gefäße zeigen zum aktuellen Zeitpunkt keinen Hinweis auf eine Intimaproliferation im Sinne einer chronischen Abstoßung.

Schlussfolgerung: Die klinische und immunologische Gesamtsituation zeigt sich, besonders aus Sicht der 5 Patienten, äußerst zufriedenstellend. Alle Patienten sind aktuell unter moderaten Immunsuppressionsdosierungen abstoßungsfrei.

031 REZIDIVE UND TRANSPLANTATABSTOBUNGEN NACH ATG-INDUKTION UND "LOW DOSE" LANGZEIT-IMMUNSUPPRESSION BEI LEBERTRANSPLANTATION WEGEN HCC

D. Moritz Felsenreich¹, Georg P. Gyoeri¹, Gerd R. Silberhumer¹, Susanne Rasoul-Rockenschau¹, Ferdinand Muehlbacher¹, Thomas Soliman¹, Gabriela A. Berlakovich¹

¹University Klinik für Chirurgie, Klin. Abt. f. Transplantation, Medizinische Universität Wien, Österreich

Hintergrund: Lebertransplantation ist die beste kurative Therapie für Patienten mit HCC innerhalb der Milan-Kriterien. Derzeit sind für diese Patienten nach Lebertransplantation verschiedene Immunsuppressionsschemata (mit oder ohne Induktionstherapie, Calcineurin-inhibitor-basiert, m-TOR-Inhibitor-basiert, etc.) in Verwendung. Durch die jeweilige immunsuppressive Therapie können Abstoßungen und Wiederauftreten der Grunderkrankung beeinflusst werden.

Methode: Diese Studie ist eine retrospektive Untersuchung prospektiv erhobener Daten aller Patienten die zwischen 01.01.2004 und 31.12.2011 aufgrund eines HCC's lebertransplantiert wurden. Das Follow-up dieser Studie war bis 31.12.2013 und beträgt im Mittel 44,5 ± 30,9 Monate. Es wurden Stammdaten wie Alter, Geschlecht, Listung und Transplantationszeitpunkt erhoben. Der AFP-Status wurde zum Zeitpunkt der Listung, Transplantation und gegebenenfalls zum Rezidivzeitpunkt evaluiert. Die genaue Dosis der

immunsuppressiven Therapie sowie der Medikamentenspiegel wurde zu mehreren Zeitpunkten im ersten Jahr erhoben. Rezidive sowie Abstoßungen und deren Therapie wurden für den gesamten Zeitraum des Follow-up ermittelt.

Ergebnisse: Insgesamt wurden 92 Patienten aufgrund eines HCC's transplantiert. 5 Patienten verstarben in den ersten 4 Tagen postoperativ und wurden in dieser Analyse nicht weiter berücksichtigt.

Bei allen Patienten wurde eine 3-tägige Induktion mit ATG (2.5 mg/kgKG/d) verabreicht. Ein Methylprednisolon-Taperschema (200 mg-160 mg-120 mg-80 mg-40 mg-20 mg) wurde intraoperativ begonnen und über 5 Tage fortgeführt. Die 1. Dosis Cyclosporin erhielten die Patienten am 4. postoperativen Tag. In den Monaten 3/6/12 war die mittlere Cyclosporin-Dosis 258 ± 93 mg/215 ± 79 mg/186 ± 94 mg (korrespondierende Spiegel (mg/dl) 122 ± 40/120 ± 68/105 ± 48), die durchschnittliche Dosis Methylprednisolon war 9,8 ± 4,5 mg/5,9 ± 3,5 mg/4,7 ± 1,5 mg. Im Monat 6 waren 21% aller Patienten steroidfrei, im Monat 12 waren es 56%.

Nur ein Patient hatte eine histologisch verifizierte Abstoßung, welche mit Steroiden (Methylprednisolon 500 mg/d über 3 Tage) und Erweiterung der Basis-Immunsuppression für 1 Jahr um 2000 mg/d MMF.

Während des Beobachtungszeitraumes hatten 15 (15,3%) Patienten ein Rezidiv des HCC's. 8 (53%) der 15 Patienten mit Rezidiv waren sowohl präoperativ, also auch zum Zeitpunkt der Diagnose des Rezidivs AFP positiv, 3 (20%) Patienten waren zu diesen beiden Zeitpunkten AFP negativ. 2 (13%) Patienten waren präoperativ AFP negativ, zum Zeitpunkt des Rezidivs allerdings positiv und weitere 2 (13%) Patienten waren präoperativ AFP positiv, zum Zeitpunkt des Rezidivs allerdings negativ.

Schlussfolgerung: In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass durch Induktionstherapie mit ATG und niedrig dosierten Calcineurininhibitoren sowohl das Abstoßungsrisiko als auch die Rezidivrate bei einem mittleren Follow-up von 3,8 ± 2,6 Jahren sehr niedrig war. Bei Patienten mit präoperativ positivem AFP ist ein post-transplant erhöhtes AFP ein sehr verlässlicher Marker für ein Rezidiv. Allerdings war in 13% der Patienten mit initialer AFP-Positivität der Rezidivtumor AFP negativ.

032 MONOZENTRISCHE PROSPEKTIVE NICHT-INTERVENTIONELLE STUDIE (NIS) MIT ADPORT HARTKAPSELN ZUR PROPHYLAXE DER TRANSPLANTATABSTOBUNG BEI PATIENTEN NACH ALLOGENER NIERENTRANSPLANTATION MIT STABILER NIERENFUNKTION

Danielle Diarra, Alice Schmidt, Gere Sunder-Plassmann

Klinische Abteilung für Nephrologie und Dialyse, Universitätsklinik für Innere Medizin III, Medizinische Universität Wien

Hintergrund: Aus Kostenerwägungen werden nun immer mehr organtransplantierte Patienten mit generischer Immunsuppression behandelt. In dieser Studie wurden die ersten klinischen Daten zum Einsatz von Tacrolimus (TAC) Sandoz/Adport bei nierentransplantierten Patienten in Österreich erhoben.

Methoden: Die Einschlusskriterien waren Alter ≥ 18 Jahre, Posttransplantationszeit ≥ 6 Monate, stabile Nierenfunktion (Serumkreatinin < 3,0 mg/dl, Variation < 0,5 mg/dl bei 2 Bestimmungen mit einem Mindestabstand von 6 Tagen), stabile TAC Dosis über ≥ 2 Wochen. Patienten mit einer akuten Abstoßungsreaktion innerhalb der letzten 3 Monate oder einer Antikörper-Therapie gegen eine Abstoßung innerhalb der letzten 6 Monate wurden nicht in die NIS eingeschlossen. Die Beobachtungsdauer betrug 6 Monate. Zur Beurteilung der Nierenfunktion wurde das Serum-Kreatinin bestimmt. Weiters wurden TAC Dosis und -Talspiegel erfasst. Die Auswertung der Daten erfolgte deskriptiv. Die Daten wurden als Mittelwert und Standardabweichung angegeben.

Ergebnisse: Bisher wurden 23 Patienten in die NIS inkludiert (mittleres Alter: 55 Jahre, 8 Frauen). Zum Zeitpunkt der Umstellung lag das Serum Kreatinin bei 1,4 mg/dl (± 0,41), die TAC Tagesdosis bei 3,1 mg (± 1,6 mg) und der TAC Talspiegel bei 5,87 ng/ml (± 1,56). Am Ende der Studie lag das Serum Kreatinin bei 1,36 mg/dl (± 0,46), die TAC Tagesdosis bei 3,0 mg (± 1,75) und der TAC Talspiegel bei 6,07 ng/ml (± 1,57). Abstoßungsreaktionen wurden nicht beobachtet, ein Patient hat wegen Kopfschmerz die NIS vorzeitig beendet.

Schlussfolgerung: Die Umstellung von Originator TAC auf generisches TAC kann unproblematisch durchgeführt werden.

033

“PILLENLAST”, ALTER ODER BILDUNG? – WELCHE FAKTOREN BEEINFLUSSEN DAS MEDIKATIONSWISSEN UND DIE ADHÄRENZ VON NIERENTRANSPANTPATIENTEN?

Gunar Stemer¹, Bettina Gnam², Melanie Groß², Rosa Lemmens-Gruber², Robin Ristl³, Bruno Watschinger⁴

¹Anstaltsapotheke, Allgemeines Krankenhaus Wien – Medizinischer Universitätscampus; ²Department für Pharmakologie und Toxikologie, Universität Wien; ³Institut für Medizinische Statistik, Medizinische Universität Wien; ⁴Klinische Abteilung für Nephrologie und Dialyse, Medizinische Universität Wien

Hintergrund: Bedeutende Herausforderungen im Rahmen der Arzneimitteltherapie nach NTx sind die Adhärenz, insbesondere zu Immunsuppressiva (IS), und die Kenntnis und das Verständnis der Arzneimitteltherapie durch den Patienten. Inadequate Adhärenz zu IS ist mit Abstoßung und Organverlust assoziiert. Ziele der Studie waren 1. die Erhebung des Medikationswissens (zu IS und Komedikation) und der Adhärenz zu IS, sowie 2. die Analyse ausgewählter (klinischer und nicht-klinischer) Einflussfaktoren auf diese Ergebnisparameter.

Methode: Prospektive Querschnittsstudie an der NTx Ambulanz des AKH Wien. Strukturierte Patientenbefragung zur Wissensermittlung und Adhärenzmessung mittels ITAS¹ und direkter Befragung im Interview. Adequate Adhärenz beurteilt als ≥ 11 ITAS Punkte und Antwort „immer“ auf die Frage nach der regelmäßigen IS Einnahme (5-teilige Skala: nie – immer). Multivariate Analyse zur Bestimmung von unabhängigen Einflussfaktoren.

Ergebnisse: 414 (69%) NTx-Patienten (median 57 Jahre; 60 Monate post NTx; 59.2% männlich) wurden befragt. 74.1% nehmen eine IS Trippeltherapie ein. 227 verschiedene Nicht-IS wurden verschrieben (40.2% kardiovaskulär). Die mediane Anzahl an verordneten Wirkstoffen/Tag liegt bei 9 (7–11), korrespondierend einer Pillelast (d.h. Peroralia/Patient/Tag) von 15 (11–20).

4.3 bzw. 15% der Patienten kennen den Grund für die Einnahme der IS oder die Bezeichnung „Immunsuppressivum“ nicht. 21, 38.2 und 27.7% der NTx-Patienten können weniger als 50% der Namen, Dosierungen und Einnahmezeitpunkte ihrer IS wiedergeben. 42% wissen nicht, was bei vergessener IS Einnahme zu tun ist. Nur 17.3% können alle ihre Komedikationen vollständig benennen. 25.8% der NTx-Patienten waren inadequat adhärenz.

Bessere Kenntnis der IS und Komedikation ist signifikant assoziiert mit jüngerem Alter ($P = 0.0005$, <0.0001), höherem Bildungsniveau ($P = 0.0184$, 0.0008) und längerer Zeit nach der NTx ($P = 0.0010$, 0.0031). Die Kenntnis der Komedikation hängt signifikant mit der Anzahl an verordneten Wirkstoffen zusammen ($P < 0.0001$). Eine bessere Adhärenz zu IS wird durch jüngeres Alter und ein niedrigeres Bildungsniveau vorhergesagt ($P = 0.0006$, 0.0031). Die Anzahl an Begleiterkrankungen und Re-Transplantationen, sowie eine vom Patienten berichtete Medikationsschulung hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Ergebnisparameter.

Schlussfolgerung: Wissensdefizite zur Arzneimitteltherapie und suboptimale Adhärenz bei NTx-Patienten unterstreichen die Notwendigkeit zu speziellen Schulungsmaßnahmen, unter besonderer Berücksichtigung der Einflussgrößen Alter, Bildungsniveau und Zeit seit der Transplantation.

Referenz: 1 Chisholm MA, Lance CE, Williamson GM, Mulloy LL. Development and validation of the immunosuppressant therapy adherence instrument (ITAS). *Patient Educ Couns* 2005;59(1):13–20

034

ARZNEIMITTELINTERAKTIONEN BEI NIERENTRANSPANTPATIENTEN – MEHR ALS EINE DATENBANKABFRAGE!

Julia Petrak¹, Rosa Lemmens-Gruber¹, Bruno Watschinger², Gunar Stemer³

¹Department für Pharmakologie und Toxikologie, Universität Wien; ²Klinische Abteilung für Nephrologie und Dialyse, Medizinische Universität Wien;

³Anstaltsapotheke, Allgemeines Krankenhaus Wien – Medizinischer Universitätscampus

Hintergrund: Die nach Nierentransplantation (NTx) erforderliche Polypharmakotherapie prädestiniert für das Auftreten von Arzneimittelinteraktionen mit potentiell deletären Konsequenzen. In der klinischen Praxis werden zum Screening von Interaktionen häufig elektronische Datenbanken (DB) verwendet. Ziel der Untersuchung war 1. die qualitative und quantitative Analyse von Medikationsregimen nach NTx, und 2. die Prüfung und Beurteilung potentieller Arzneimittel-Arzneimittelinteraktionen (pAAI) und deren klinische Relevanz.

Methode: Retrospektive, pharmakoepidemiologische Erhebung und Risikoabschätzung (Häufigkeit und klinische Relevanz) aller Arzneimittelinteraktionen, bei Aufnahme (A) und Entlassung (E) internistisch-stationär nachbehandelter NTx-Patienten am AKH Wien zwischen 07/2011- 12/2012, nach Screening in 3 unterschiedlichen Datenbanken (DB) (Micromedex[®], Medis[®], MediQ[®]).

Ergebnisse: 104 von 252 (41%) NTx-Patienten (Alter (IQR) 56.5(46–65); 54.8% männlich; 76.9% 1. NTx) wurden postoperativ auch internistisch-stationär nachbetreut. Die Patienten erhielten bei Entlassung signifikant mehr Arzneistoffe als bei Aufnahme (14 ± 3.6 vs. 15 ± 3.9 , $P = 0.007$). 91.3% der Patienten erhielten bei Entlassung eine Immunsuppressiva (IS)-Trippeltherapie mit Tacrolimus, Mycophenolat und Steroid. 80% der Arzneistoffe wurden zur Therapie von Komorbiditäten bzw. zur Infektprophylaxe verordnet. Während des Aufenthaltes (Median (IQR) 19.5 Tage (12–30)) wurde 31 mal (17–50) die Medikation verändert und 5 (3–8) Bedarfsmedikamente/Patient verordnet.

Die Anzahl an pAAI/Patient war bei Entlassung signifikant höher (21 ± 11.5 bei E vs. 19 ± 10.0 bei A, $P = 0.005$). Beispiele für häufige und durch die DB als schwerwiegend beurteilte pAAI sind die veränderte Plasmakonzentration von Tacrolimus als Folge einer CYP3A4-Interaktion mit Prednisolon (A: 61.5%, E: 92.3%) und eine Resorptionshemmung von Mycophenolat durch Pantoprazol (A: 40.4%, E: 39.4%) oder Magnesiumsalze (A: 0%, E: 15.4%). Selten, aber schwerwiegend/kontraindiziert sind laut DB 10 Arzneistoffkombinationen, wovon die Kombination Tacrolimus/Amiodaron am häufigsten ($n = 3$) war. Das DB-Screening ergab deutliche Varianzen mit durchschnittlich 6 ± 4.3 (DB1), 9 ± 5 (DB2) und 17 ± 9.8 (DB3) pAAI/Patient, wobei die klinische Relevanz meistens als ‚gering‘ bis ‚moderat‘ klassifiziert wurde. Die DB-Konkordanz ist gering: Nur 10% der pAAI werden von allen 3 DB erfasst. Die Relevanzbeurteilung stimmt nur in 8% überein.

Schlussfolgerung: Die große Anzahl an Arzneistoffen und häufige Therapieänderungen führen bei NTx-Patienten zu einer hohen Prävalenz an pAAI. Die Ergebnisse eines elektronischen Interaktionschecks können zwar orientierende Hinweise liefern, für deren Interpretation und Vervollständigung bedarf es aber einer darüber hinausgehenden Medikationsanalyse und einer klinischen Kosten/Nutzen Bewertung.

FRIDAY, OCTOBER 17, 2014, 13.45–15:00 h
SITZUNG: PARALLELSITZUNG 1 (HERZ)

035 WANN IST DAS BRIDGE TO BRIDGE – KONZEPT IM KARDIOGENEN SCHOCK IN FRAGE ZU STELLEN?

Christina Lins¹, Daniel Höfer¹, Julia Dumfarth¹, Marc Kaufmann², Stephan Eschertzhuber², Gerhard Pölzl³, Michael Grimm¹, Herwig Antretter¹
¹Universitätsklinik für Herzchirurgie, Department Operative Medizin, Medizinische Universität Innsbruck; ²Universitätsklinik für Anästhesie und Intensivmedizin, Medizinische Universität Innsbruck; ³Universitätsklinik für Innere Medizin III, Kardiologie und Angiologie, Medizinische Universität Innsbruck

Hintergrund: Patienten im kardiogenen Schock werden initial durch die Implantation einer extrakorporalen Membranoxygenierung (ECMO) stabilisiert. Wenn die Entwöhnung von der ECMO unmöglich ist, werden die Patienten mit einem ventrikulären Assistenz-System (VAD) längerfristig versorgt. Nach Stabilisierung am VAD kann es zur kardialen Erholung kommen (bridge to recovery), oder der Patient wird zur Herztransplantation (HTX) gelistet (bridge to transplant). Schließlich kann ein Patient auch dauerhaft am VAD verbleiben (chronic implantation, alternative to transplant). Ziel dieser retrospektiven Analyse war die Evaluierung von Risikofaktoren an der ECMO, die trotz chirurgisch erfolgreicher VAD-Implantation mit deletärem Ausgang assoziiert sind.

Methode: Seit 1995 wurden 58 Patienten mit dem bridge (ECMO) to bridge (VAD) – Konzept versorgt. Diese Patienten waren entweder im INTERMACS level 1 ("crash and burn") oder level 2 ("sliding fast").

Ergebnisse: 74% (n = 43) der Patienten waren männlich, das durchschnittliche Alter lag bei 48 Jahren. 17 Patienten (29%) erhielten die ECMO unter kardiopulmonaler Reanimation implantiert. Das Langzeit-Überleben betrug 48% (n = 28). Hochsignifikante Risikofaktoren für Mortalität trotz VAD waren erhöhtes Bilirubin (cutoff level 1,9 mg/dl), erhöhte Serum-Laktat-Spiegel (17 mg/dl) und Zustand nach kardiopulmonaler Reanimation. Die häufigsten Komplikationen an der ECMO waren Blutungen und Thromboembolien, die häufigste Todesursache war Multiorganversagen.

Schlussfolgerung: Das bridge to bridge – Konzept kann bei ausgewählten Patienten im kardiogenen Schock erfolgreich eingesetzt werden. An der ECMO ist eine Evaluation der Risikofaktoren möglich. Allerdings ist bei ausgeprägter Risiko-Konstellation (Reanimation, Laktat, Bilirubin) die Indikation zur VAD-Implantation sorgfältig abzuwägen.

036 DOES A CRUMBLING BRIDGING STRATEGY PUT PATIENT AT RISK FOR CARDIAC TRANSPLANTATION?

Stephane Mahr¹, Thomas Haber¹, Arezu Aliabadi¹, Stephanie Wallner¹, Daniel Zimpfer¹, Günther Laufer¹, Andreas Zuckermann¹
Medizinische Universität Wien, Universitätsklinik für Chirurgie, Abteilung für Herzchirurgie

Background: Outcome after cardiac transplantation is significantly influenced by pre-operative condition of recipients. Mechanical ventricular assist device therapy (VAD) has revolutionized bridging strategies for transplantation. However, contradictive data exist, if VAD patients deteriorate and high urgent transplantation becomes necessary. The aim of this analysis was to examine outcome of high urgent VAD patients.

Patients and methods: We retrospectively evaluated adult (≥ 16 a) patients undergoing cardiac transplantation at our institution between January 2006 and December 2013. Patients were divided into 4 groups (VAD, VAD-high urgent, ECM high urgent, high urgent and other). Primary endpoints were primary graft dysfunction (PGD), 30-day and one year survival. Survival was calculated by Kaplan-Meier analysis and differences were tested by log-rank test.

Results: 282 patients (68(24%) female, 214 male (76%) male) older than 16 years underwent cardiac transplantation at our institution between January 2006 and December 2013. Median age was 56 ± 13 years. 65 (23%) patients underwent left ventricular assist device implantation (LVAD) prior cardiac transplantation. A small group of 6 (2.1%) patients required extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) support prior to cardiac transplantation. 86 (30.4%) patients had high urgency (HU) status at the time of transplantation. In the HU status patients group non-LVAD vs VAD vs ECMO were 58(20.5%) vs. 22(7.8%) vs. 6(2.1%).

PGD rate was not different between the four groups (HU: 12%, HU-VAD: 17%, VAD: 12%, other: 13%). Overall thirty day and one year mortality was 4% and 13%. HU non-LVAD patients (n = 57) vs HU LVAD patients (n = 24) had a thirty day and one year mortality of 5% vs. 8% and 10% vs. 17% respectively. (n.s.). Patients who were not on HU status had a 30 day and one year mortality rate of 5% and 16% (non LVAD patients) vs. 3% and 7% (VAD patients) (n.s.).

Conclusion: HU patients seem to have similar early and 1-year survival rates compared to non-HU patients. Numerically VAD-HU patients have a higher mortality compared to non-VAD patients. Future analysis are needed to select those deteriorating VAD patients where HU is associated with good outcome.

037 INDUCTION OF HUMAN-LEUCOCYTE-ANTIGENE ANTIBODIES IN LONG-TERM SUPPORT BY MECHANICAL ASSIST DEVICES

Thomas Haber¹, Julia Riebandt¹, Stephane Mahr¹, Gottfried Fischer², Dominik Wiedemann¹, Daniel Zimpfer¹, Günther Laufer¹, Andreas Zuckermann¹
¹Department of Cardiac Surgery, Medical University of Vienna; ²MedUni Wien University-Klinik für Blutgruppenserologie und Transfusionsmedizin

Objective: Continuous contact of the blood stream to foreign antigen may lead to induction of Human-Leucocyte-Antigen (HLA) Antibodies, called sensitization. Previous studies have shown that patients, with mechanical assist device support (VAD), have a higher risk to develop sensitization. Therefore, it is mandatory to do repetitive measurements of Panel-Reactive-Antibodies (PRA) before transplantation. The aim of our study was to analyze the induction of PRA's in VAD patients.

Methods: Blood samples from 72 patients (mean age 50.7 ± 16.6 years.; male 81%) that received a Left Ventricular Assist Device since July 2008 were collected from February 2009 to June 2014. Blood samples were taken every three months after VAD implantation. Computerized analyses of lymphocytotoxicity reaction patterns on characterized cell panels provided results for HLA class I and II antibodies divided into reaction with/without Dithiothreitol. PRA levels $>10\%$ and $\geq 80\%$ were defined as sensitized and highly sensitized respectively. Rate of transplantation, rejection rate and survival after transplantation were analyzed in these patients.

Results: In 5 patients (7%) Panel Reactive Antibodies could be verified. 4 Patients were defined as sensitized and 2 of them as highly sensitized. PRA's developed at a median time of 9 months after VAD implant. PRA's changed over time in 3 patients (1st test vs latest test): 3% vs. 0%; 57% vs 67% and 97% vs. 47%. 3 sensitized patients were bridge to transplant, 1 bridge to candidacy due to cancer and 1 Patient received the LVAD as destination therapy (age >70). In no patient de-sensitization protocols were initiated. However, highly sensitized patients received immune absorption directly before transplantation and 7 courses afterwards. Two Patients have been transplanted, one of them with a highly sensitized protocol. Both patients are alive 8 and 36 months post transplantation. The highly sensitized patient developed antibody and cellular rejection after transplantation.

Conclusion: In our VAD patient population, the incidence of sensitization is low. Future studies are needed to examine the causes for the low rate of sensitization in our patient cohort.

038 ZUSAMMENHANG ZWISCHEN CMV UND GRAFTVASKULOPATHIE: EIN PARADIGMA IM WANDEL?

Johannes Goekler¹, Arezu Aliabadi¹, Daniela Dunkler², Stephanie Wallner¹, Marco Masetti³, Keziban Uyanik-Uenal¹, Stephane Mahr¹, Guenther Laufer¹, Andreas Zuckermann¹
¹Klinische Abteilung für Herzchirurgie, Medizinische Universität Wien, Wien, Österreich; ²Zentrum für med. Statistik, Informatik und intelligente Systeme (CeMSIIS), Medizinische Universität Wien, Wien, Österreich und; ³DIMES Department, Universität Bologna, Bologna, Italien

Hintergrund: Zytomegalievirus (CMV)-Infektionen nach Herztransplantation (HTX) werden mit akuten Abstoßungen und Graftvaskulopathie (CAV) assoziiert. Die Diagnose mittels CMV-PCR sowie die Prophylaxe/Therapie mittels Valganciclovir sind seit 2002 Standard in Wien. Das Ziel unserer Studie war, den Einfluss von CMV auf die Entwicklung einer Graftvaskulopathie sowie auf das Überleben nach Herztransplantation zu analysieren.

Methoden: Eingeschlossen wurden 384 PatientInnen, älter als 18 Jahre, die zumindest das 1. Monat überlebt haben (medianes Alter 55J, 24% weiblich, transplantiert zwischen 2002 und 2012). CMV-HochrisikopatientInnen (Empfänger negativ/Spender positiv) erhielten eine 3-monatige Valganciclovir-Prophylaxe. Mittels Cox-Regression wurde der Zusammenhang zwischen dem CMV-Matching (Empfänger/Spender) und Auftreten von CMV-Infektion/Erkrankung sowie zwischen der CMV-Infektion und Überleben oder Graftvaskulopathie analysiert.

Resultate: Der CMV-Match war: (Empfänger/Spender) +/+ : 36%, -/- : 20%, +/- : 20%, -/+ : 24%. Eine CMV-Infektion trat bei 33%, eine CMV-Erkrankung bei 7% der PatientInnen auf. Die mediane Zeit bis zum Auftreten einer CMV-Infektion betrug 1.5 Monate, bei der Hochrisikogruppe mit Prophylaxe 6 Monate. CMV-Match -/- hatte ein signifikant geringeres Risiko für eine CMV-Infektion ($P < 0.0001$, HR: 0.07) und CMV-Erkrankung ($P < 0.0001$, HR: 0.12). Die CMV-Infektion war grenzwertig mit einem schlechteren Überleben assoziiert ($P = 0.08$; HR 1.61), nicht jedoch mit höherem Risiko für eine Graftvaskulopathie ($P = 0.72$; HR 1.01).

Zusammenfassung: Unsere Daten konnten zeigen, dass eine frühe CMV-Diagnostik und Prophylaxe mit Valganciclovir mit einem späteren Infektionszeitpunkt assoziiert sind. CMV scheint heute kein Risikofaktor für die Entwicklung einer Graftvaskulopathie darzustellen.

039

ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME (ACE)-HEMMUNG IN HERZTRANSPLANTIERTEN PATIENTEN: LOKALE UND SYSTEMISCHE EFFEKTE AUF DEN ANGIOTENSIN METABOLISMUS

Johannes J. Kovarik¹, Chantal Kopecky¹, Marlies Antlanger¹, Oliver Domenig¹, Christopher C. Kaltenecker¹, Manfred Hecking¹, Michael Haidinger¹, Johannes Werzowa¹, Stephane Mahr², Martina Grömmner², Andreas Zuckermann², Marcus D. Säemann¹

¹Klinik für Innere Medizin III, Klinische Abteilung für Nephrologie und Dialyse, Medizinische Universität Wien, Österreich; ²Abteilung für Herzchirurgie, Medizinische Universität Wien, Österreich; ³Universitätsklinik für Herzchirurgie, Universitätsklinikum Salzburg, Österreich

Hintergrund: Das Renin-Angiotensin-System (RAS) spielt eine zentrale Rolle in der Regulation des Blutdrucks sowie des Flüssigkeitshaushalts des Körpers. Neben dem systemischen RAS wurde auch über ein lokales gewebespezifisches RAS berichtet, wo wichtige Effektoren des "klassischen RAS" wie Angiotensin (Ang) II und des „alternativen“ RAS wie Ang 1-7 generiert werden sollen.

Während ACE Hemmer bei systolischer Herzinsuffizienz einen Überlebensvorteil besitzen, besteht Unklarheit, ob dies durch eine Modifikation des lokalen oder systemischen RAS erfolgt.

Methode: In dieser monozentrischen Querschnittstudie wurde die systemische und lokale RAS Aktivität mittels Massenspektrometrie untersucht. Herz transplantierte (HTx) Patienten ohne RAS Blockade ($n = 6$) oder unter ACE Hemmer Therapie ($n = 6$) wurden einerseits hinsichtlich ihres systemischen Angiotensin-Profils analysiert und andererseits wurde die Kapazität der Ang II sowie Ang 1-7 formenden Enzyme in korrespondierenden Herzbiopsiehomogenaten untersucht.

Ergebnisse: ACE Hemmer führten zu einer Renin-medierten Aktivierung des systemischen RAS, supprimierten effektiv die systemische Ang II Bildung, während die lokale Ang II Bildung in Herzbiopsien komplett unbeeinflusst blieb. Im Gegensatz dazu zeigte eine *ex vivo* Behandlung mit Chymostatin eine effiziente Blockade der Ang II Bildung in Herzbiopsien während die systemische Ang II Bildung unbeeinflusst blieb. Zusätzlich gelang es uns im Rahmen dieser Studie erstmals die Existenz einer Enzymaktivität von Neprilysin (NEP), einem Enzym welches an der Ang 1-7 Bildung im Herzgewebe beteiligt ist nachzuweisen. Interessanterweise ist die ACE2 Aktivität im Herzgewebe nicht notwendig um Ang 1-7 zu generieren.

Schlussfolgerung: Unsere Ergebnisse zeigen, dass aufgrund der fehlenden Inhibition auf das lokale RAS, die systemischen Effekte einer ACE Hemmung entscheidend sein müssen. Für die lokale Ang II Bildung sind ACE unabhängige Enzyme wie Chymase essentiell, zudem beeinflusst NEP maßgeblich das alternative RAS. Unsere Daten bieten eine molekulare Grundlage für innovative Therapiestrategien bei kardio-renalen Erkrankungen.

SITZUNG: PARALLELSITZUNG 2 (LEBER)

040 ERSTE ERFAHRUNGEN MIT SOFOSBUVIR-BASIERTER INTERFERONFREIER THERAPIE VON HCV-INFEKTIONEN VOR BZW. NACH LEBERTRANSPLANTATION

Rudolf Stauber¹, Vanessa Stadlbauer¹, Walter Spindelboeck¹, Andreas Posch¹, Andrea Streit¹, Daniela Kniepeiss², Florian Iberer²

¹Klinische Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie, Univ.-Klinik für Innere Medizin, Medizinische Universität Graz; ²Klinische Abteilung für Transplantationschirurgie, Univ.-Klinik für Chirurgie, Medizinische Universität Graz

Hintergrund: Ein HCV-Rezidiv tritt nach Lebertransplantation (LTX) wegen HCV-assoziiierter Zirrhose regelhaft auf und kann bei schwerem Verlauf zum Transplantatverlust bzw. zu lebensbedrohlichen Komplikationen führen. Interferon-basierte Therapien vor bzw. nach Lebertransplantation zeigen nur geringe Effektivität bei teils gravierenden Nebenwirkungen. Sofosbuvir ist ein pangentotypisch wirksamer nukleotidischer Polymerasehemmer mit hoher Resistenzbarriere und kann in Kombination mit Ribavirin oder dem NS5A-Inhibitor Daclatasvir (compassionate use) zur interferonfreien anti-HCV Therapie eingesetzt werden. Beide Therapieformen zeichnen sich durch hohe antivirale Wirksamkeit (SVR >90% im non-LTX Setting), gute Verträglichkeit und weitgehend fehlende Arzneimittel-Interaktionen aus. Wir berichten unsere ersten Erfahrungen mit interferonfreien anti-HCV Therapien vor bzw. nach LTX.

Methoden: Im Zeitraum März-Juni 2014 wurde bei 11 konsekutiven Patienten mit HCV-Infektion auf der LTX-Warteliste bzw. nach LTX eine Sofosbuvir-basierte antivirale Therapie eingeleitet. Die Indikationen umfassten dekompensierte Zirrhose vor LTX, sowie schweres HCV-Rezidiv post LTX (fibrocholestatische Hepatitis bzw. höhergradige Fibrose/Zirrhose laut Fibroscan). Die antivirale Therapie erfolgte entweder mit Sofosbuvir 400 mg/d plus Ribavirin (800-1200 mg/day) oder mit Sofosbuvir 400 mg/d plus Daclatasvir 60 mg/d, jeweils für eine Dauer von 24 Wochen.

Ergebnisse: Das Kollektiv umfasste 4 Patienten auf der LTX-Warteliste und 7 Patienten mit HCV-Rezidiv post LTX (6x LTX, 1x LNTX; 2x fibrocholestatische Hepatitis, 5x höhergradige Fibrose/Zirrhose; Intervall seit LTX 3 Monate bis 9 Jahre). 10 Patienten waren mit HCV Genotyp 1 und 1 Patient mit HCV Genotyp 2 infiziert. 8 Patienten waren mit Interferon-haltigen Regimes vorbehandelt, 3 Patienten waren therapienaiv. Die mittlere Virämie bei Therapiebeginn betrug 4.1×10^6 IU/ml. 6 Patienten erhielten Sofosbuvir/Ribavirin und 5 Patienten Sofosbuvir/Daclatasvir. Zum Zeitpunkt der Abstract-Einreichung waren alle 5 Patienten, welche bereits Therapiewoche 12 erreicht hatten, virusfrei (HCV-RNS nicht nachweisbar). Das Zeitintervall bis zur Negativierung der HCV-RNS betrug im Mittel 6 Wochen. Ein Patient mit Sofosbuvir/Ribavirin prä LTX entwickelte eine höhergradige Anämie, sodass Ribavirin pausiert werden musste; ansonsten wurden keine Nebenwirkungen verzeichnet.

Schlussfolgerung: Eine Sofosbuvir-basierte interferonfreie anti-HCV Therapie stellt eine neue, hocheffektive und gut verträgliche Therapieoption im prä- und post-LTX Setting dar. End-of-treatment response und erste SVR-4 Daten werden im Oktober 2014 verfügbar sein.

041 LESIONS LEARNED FROM MORE THAN 2200 DONORS WHO WERE INITIALLY REPORTED FOR LIVER TRANSPLANTATION BUT FINALLY REVISED

Robert Breuer, Georg Gyoeri, Erwin de Fries, Robert Breuer, Xavier Rogiers, Gabriela Berlakovich, Gerd R. Silberhumer^{1,2}

¹Department of Transplant Surgery, Medical University Vienna, Austria;

²Eurotransplant, Leiden

Introduction: Over the past years, liver transplantation has established as therapy of choice for end-stage liver diseases, but this life saving therapy is limited due to donor shortage. Therefore, in the recent decades the cut off limits for liver donors were extended to increase the donor pool. The aim of this study was to analyze donor characteristics of finally transplanted grafts with finally declined donor grafts within the Eurotransplant area between 2000 and 2005.

Methods: 9053 whole liver grafts from deceased donors were reported between 2000 and 2005 in the Eurotransplant area. Finally 6830 have been transplanted (Study group A), whereas 2223 have been rejected (Study group B). We statistically analysed differences in donor characteristics between group A and group B according to extended donor criteria.

Results: In the rejected group (B) 746 (33.6%) grafts were initially accepted but finally declined during the organ harvest procedure.

In general donors of group B had a statistically significant higher mean donor age (52 vs. 42 years, $P < 0.01$) combined with a higher mean BMI (26 vs. 24, $P < 0.01$). Cardiovascular donor death showed a significantly higher incidence in the declined population (74% vs. 62%, $P < 0.01$). Additionally, liver parameters (AST: 75 vs. 52, ALT: 69 vs. 44, gamma GT: 103 vs 52 were significantly higher, too ($P < 0.01$).

Conclusion: Despite an apparently poorer organ quality, several of the declined liver donors might have a quite acceptable organ quality for transplantation. Standardized clinical evaluation tools have to be established to adequately utilize this potential alternative donor pool.

042 GENDER-SPECIFIC DIFFERENCES IN LIVER TRANSPLANTATION – ARE MEN AND WOMEN THE SAME? A SINGLE CENTER EXPERIENCE

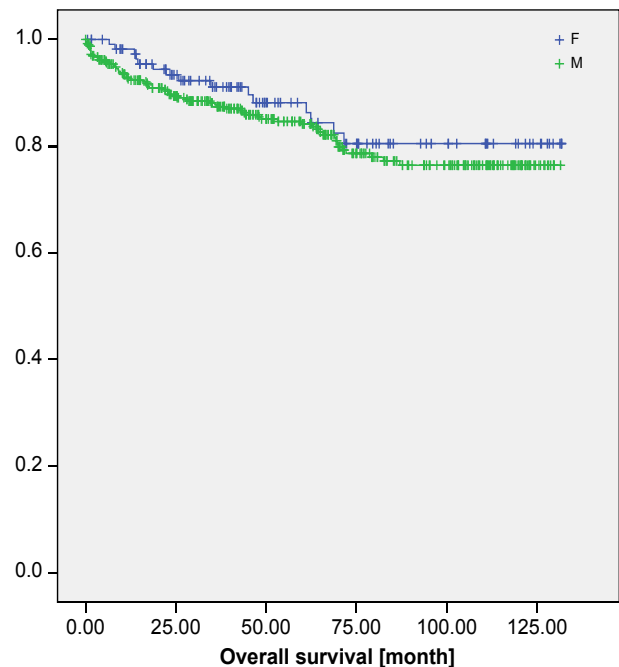
Barbara Kern¹, Benedikt Feurstein¹, Josef Fritz², Felix Aigner¹, Claudia Bösmüller¹, Stefan Schneeberger¹, Thomas Schmid¹, Manuel Maglione¹, Johann Pratschke³

¹University Klinik für Visceral-, Transplantations-, Thoraxchirurgie, Innsbruck, Austria; ²Department für Medizinische Statistik und Informatik, Innsbruck, Austria; ³University Klinik für Allgemein-, Visceral-, Transplantationschirurgie, Charite, Berlin, Germany

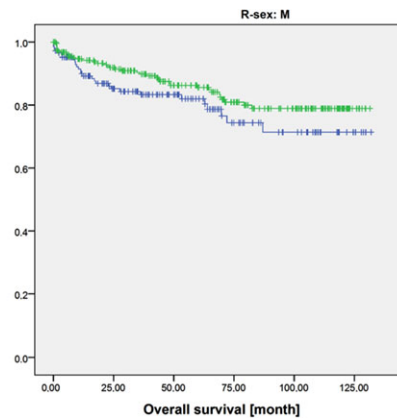
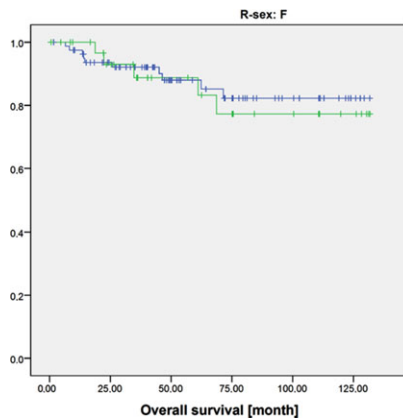
Background: Liver transplantation remains the mainstay of therapy for end-stage liver disease. Gender-specific differences have been observed. The aim of this study was to detect and describe gender-specific differences within the Innsbruck data.

Methods: This is a retrospective analysis of 515 patients who underwent OLT between 2002 and 2012.

Results: The study population included 116 (22.5%) women and 399 (77.5%) men. There was no gender specific difference observed in overall survival ($P = 0.342$; see figure 1). Average MELD score was 21.0, average BMI 25.3. Female patients were associated with a significant higher MELD score at time of transplantation ($P = 0.004$). Gender mismatch had no impact on patient survival ($P = 0.759$; $P = 0.130$; see figure 2). Operation time and infection rate were significantly higher in the female cohort ($P = 0.012$; $P = 0.04$; respectively). Female patients with HCC showed no difference in overall survival when compared to male HCC patients ($P = 0.282$).



Conclusion: There was no difference in overall survival although female patients had a significant higher MELD score at time of transplantation. Accurate preoperative infection prophylaxis regarding urinary tract infection, enteritis, botulinum toxin as well as candida infection should be considered in the female patient cohort.



043

ALKOHOLREZIDIVRATE UND CARBOHYDRATE-DEFICIENT-TRANSFERRIN (CDT)-MESSUNG NACH LEBERTRANSPLANTATION WEGEN ALKOHOLISCHER LEBERZIRRHOSE IM LANGZEIT-FOLLOW-UP

Dagmar Kollmann, Susanne Rasoul-Rockenschaub, Edith Freundorfer, Georg Györi, Gerd Silberhumer, Ferdinand Mühlbacher, Thomas Soliman, Gabriela A. Berlakovich

Klinische Abteilung für Transplantation, Universitätsklinik für Chirurgie, Medizinische Universität Wien (MUW)

Hintergrund: Das Follow-Up von PatientInnen nach LT bei ALCI ist eine Herausforderung, ein mögliches Alkoholrezidiv muss regelmäßig evaluiert werden. Das Carbohydrate-Deficient-Transferrin (CDT) ist ein Biomarker, welcher nach Alkoholkonsum ansteigt. In dieser Studie wurden die Verwendung von CDT in der post-LT-Nachsorge und der Einfluss von einem Alkoholrezidiv auf das Langzeitüberleben analysiert.

Methoden: Daten von PatientInnen, die zwischen 1996 und 2012 an der MUW wegen ALCI eine LT erhalten haben, wurden prospektiv erhoben und analysiert. Die Inzidenz eines Alkoholrezidives wurde als jeglicher Alkoholkonsum post-LT definiert. CDT wurde regelmäßig gemessen und die Werte mit dem Gold Standard (psychologische Evaluierung) korreliert.

Ergebnisse: Insgesamt erhielten zwischen 1996 und 2002 382 PatientInnen wegen ALCI eine LT. Das mediane Follow-Up lag bei 73 Monaten (0-213). Das 1- und 5-Jahres PatientInnen- und Transplantat-Überleben war 82% und 69% bzw. 82% und 75%. Bei 62 PatientInnen (16,2%) wurde im Rahmen der Nachuntersuchungen ein Alkoholrezidiv diagnostiziert. Die Alkoholrezidivrate nach 1 und 3 Jahren berechnet sich mit 4,5% und 12,6%. Insgesamt wurden post-LT 6858 CDT-Messungen durchgeführt und es konnte eine Sensitivität von 84% und eine Spezifität von 87% gezeigt werden. PatientInnen- und Transplantat-Überleben waren durch ein Alkoholrezidiv nicht negativ beeinflusst. ALCI war bei 290 PatientInnen Haupt- und bei 92 Nebenindikation, dies zeigte bezüglich PatientInnen- und Transplantat-Überleben keinen signifikanten Unterschied. PatientInnen, die ALCI als Hauptindikation hatten, zeigten signifikant (Log-Rank $P = 0.037$) häufiger ein Alkoholrezidiv. In der Subgruppe mit Alkoholrezidiv wurden bei 40,6% (13/32) Leberkomplikationen als Todesursache identifiziert, in der Subgruppe ohne Alkoholrezidiv nur bei 14,4% (16/154; $P < 0,001$).

Schlussfolgerung: Diese große Kohortenanalyse von Lebertransplantation wegen ALCI zeigt sehr gute Langzeitergebnisse, sowohl hinsichtlich des Gesamt- und Transplantat-Überlebens, als auch bezüglich der Alkoholrezidivrate. Die Messung von CDT hat sich als hilfreicher Marker für die frühzeitige Erkennung und konsekutive Behandlung eines Alkoholrezidives erwiesen.

044

EARLY ENDOSCOPIC TREATMENT OF BILIARY COMPLICATIONS REDUCES THE NEED FOR REPEATED INTERVENTIONS – A SINGLE CENTER EXPERIENCE WITH 820 LIVER TRANSPLANTS

Robert Sucher¹, Barbara Kern¹, Benedikt Feurstein¹, Paul Hengster¹, Hubert Schweighofer², Wolfgang Vogel², Robert Öllinger¹, Stefan Schneeberger¹, Christoph Profanter¹, Johann Pratschke¹

¹Department of Visceral-, Transplant- and Thoracic Surgery, Innsbruck Medical University; ²Department of Medicine II, Gastroenterology and Hepatology, Innsbruck Medical University

Background: Biliary strictures and leaks are a major source of morbidity following liver transplantation. Endoscopic retrograde cholangiography (ERC) however, represents an efficient means to successfully treat these types of complications. Aim of this study was to evaluate risk factors for biliary complications in liver transplant recipients and assess the effectiveness of early ERC.

Material Methods: We reviewed our institutional database of 820 consecutive liver transplants performed within the last 13 years (01/2000–10/2013) at our institution.

Results: The overall biliary complication rate as confirmed by endoscopy was 18.4% ($n = 151$). Incidence of biliary complications was significantly higher in anastomoses with internal draining stents: 23.7% ($n = 9/38$), when compared to anastomoses with T-Tube drainage: 19.9% ($n = 28/141$) and end-end anastomoses: 18.9% ($n = 104/553$) ($P < 0.01$). Mean time from diagnosis to endoscopic treatment was 3.1 days. An average of 4.1 endoscopic re-interventions were necessary to treat 12.3% ($n = 101$) biliary stenoses, 4.3% ($n = 35$) biliary leaks, and 1.9% ($n = 15$) combined complications (stenosis & leak). Early endoscopic treatment (< 3 days after clinical and radiological diagnosis) significantly reduced the need for repeated interventions (< 3 days: 3.1 ± 0.3 interventions vs. > 3 days: 4.9 ± 0.8 interventions; $P < 0.01$). Sphincterotomy and partial sphincterotomy was performed in 44.6% and 9.6% of cases. The amount of Plastic Stents (62.8%) used was significantly higher when compared to Coated Metal Stents (11.5%) and Pig-Tail Stents (10.3%; $P < 0.01$). Median duration of stent treatment was 43 days (1–265 days). Retransplantation-rate due to persistent complications was 3.8%. Significant risk factors associated with biliary complications were increased cold ischemia times (CIT), recipient-weight, and body mass index, as well as higher donor age, donor-weight and donor-body mass index (all $P < 0.01$).

Conclusion: Early endoscopic intervention is key to successful treatment of biliary complications after liver transplantation. Biliary anastomoses with T-Tubes are superior to anastomoses with stents and equal to end-end biliary anastomoses without stents.

SITZUNG: PARALLELSITZUNG 3 (BASIC SCIENCE)

045 **EFFEKTE VON KALTER ISCHÄMIE UND DER EINFLUSS NEUER PRESERVATIONSLÖSUNGEN AUF VASKULARISIERTE GEWEBSTRANSPLANTATE IM RATTENMODELL**

Franka Messner¹, Theresa Hautz¹, Michael Blumer², Mario Bitsche², Martin Hermann³, Bettina Zelger⁴, Elisabeth Pechrigg², Johann Pratschke¹, Stefan Schneeberger¹

¹Department für Viszeral-, Transplantations- und Thoraxchirurgie, Medizinische Universität Innsbruck; ²Department für Anatomie und Histologie, Medizinische Universität Innsbruck; ³Department für Anästhesie, Medizinische Universität Innsbruck; ⁴Department für Pathologie, Medizinische Universität Innsbruck

Hintergrund: Der Ischämie-/Reperfusionsschaden (I/R) ist ein Faktor, der sich frühzeitig negativ auf ein Transplantat auswirkt. Ischämie führt zu schwerwiegenden Veränderungen in der zellulären Physiologie, die schlussendlich zur Zelldegeneration führen. Auch die Reperfusion beeinträchtigt die Transplantatfunktion durch die Generierung von oxidativem Stress und Entzündungsreaktionen. In den letzten Jahren wurden neue Perfusionslösungen entwickelt, die durch Modifizierung diese Vorgänge spezifischer adressieren und I/R Schäden minimieren sollen.

Methoden: Es wurden 40 orthotope, isogene Hinterlauftransplantationen bei männlichen Lewis Ratten durchgeführt. Nach Explantation wurde das Transplantat mit 5 ml kalter HTK, HTK-N, TiProtec und Kochsalzlösung gespült, in einen sauberen Tupfer gewickelt und mit weiteren 5 ml Spüllösung befeuchtet. Anschließend erfolgte die Lagerung für 10 bzw. 6 Stunden bei 4°C. Am 10. postoperativen Tag wurden Proben von Haut, Muskel, Gefäß, Nerv und Knochen entnommen und mittels konfokaler Mikroskopie, Histologie und Elektronenmikroskopie untersucht.

Ergebnisse: In der konfokalen Mikroskopie gab es bezüglich der Muskelzellvitalität nach 6 bzw. 10 Stunden kalter Ischämiezeit (KIZ) am Tag 10 keine signifikanten Unterschiede zwischen den Lösungen HTK-N (6 h: 83,4%; 10 h: 82,2%), HTK (6 h: 96,0%; 10 h: 80,6%), TiProtec (6 h: 92,6%; 10 h: 61,2%) und NaCl (6 h: 88,2%; 10 h: 85,4%). In der histologischen Auswertung zeigte sich die Überlegenheit von HTK im Muskelgewebserhalt nach 10 h KIZ. Nach 6 h KIZ besaß TiProtec die beste Preservationsfähigkeit (nicht signifikant) in allen untersuchten Gewebeproben. Die licht- und elektronenmikroskopischen Analysen ergaben, dass Haut, Knochen und Gefäße in allen Gruppen vergleichbar gut erhalten waren. Nach 6 h KIZ waren Gewebsschäden deutlich geringer ($P = 0,051$) als nach 10 h KIZ.

Schlussfolgerung: Nerven- und Muskelgewebe werden durch I/R stark geschädigt. Haut und Gefäße sind im Gegensatz dazu wenig betroffen. HTK schneidet bei der Muskelgewebserhaltung nach 10 h kalter Lagerungszeit am besten ab (nicht signifikant). Nach 6 h KIZ zeigt sich die Überlegenheit von TiProtec im Gewebserhalt (nicht signifikant). Die maximale kalte Ischämiezeit für vaskularisierte Gewebstransplantate sollte 6 h nicht überschreiten.

046 **DER SPENDERHIRNTOD FÜHRT ZU EINER MIGRATION VON DCS UND NK-ZELLEN – WELCHE DEN ISCHÄMIE-/REPERFUSIONSSCHADEN NICHT BEEINFLUSST**

Paul Ritschl¹, Rupert Oberhuber¹, Muhammed Ashraf¹, Cornelia Fabritius¹, Susanne Ebner¹, Thomas Resch¹, Bernhard Flörchinger², Julia Guenther¹, Anh-Vu Nguyen¹, Johann Pratschke¹, Katja Kotsch¹

¹Viszeral-, Transplant- und Thoraxchirurgie, Medizinische Universität Innsbruck, Innsbruck, Österreich; ²Herzthoraxchirurgie, Medizinische Universität Regensburg, Regensburg, Deutschland

Hintergrund: Klinische Daten belegen die pathophysiologischen Auswirkungen des Hirntodes (BD) auf das Transplantatüberleben. Die immunologischen Hintergründe verbleiben jedoch ungeklärt.

Methoden: Für eine systematische Untersuchung der Immunaktivierung in Folge des Hirntodes wurde ein Hirntodmodell in der Maus etabliert. Hierfür wurde bei C57BL/6 Mäusen mittels gradueller intrakranieller Druckerhöhung der Hirntod induziert und für 4 Stunden unter steter Beatmung aufrechterhalten. Ausschließlich ventilierte Mäuse (=SH) und unbehandelte (=naive) Tiere dienten als Kontrollen ($n = 6$ /Gruppe). Primäre Lymphozyten wurden aus soliden (Leber, Niere, Herz) und lymphatischen Organen (Lymphknoten, Milz) isoliert und mittels Durchflusszytometrie auf deren Zusammensetzung und Aktivierung hin untersucht. In einem weiteren Versuch wurden Nieren von SH und BD Mäusen in einem syngenem Mausmodell transplantiert und nach 20 Stunden Reperfusion analysiert. Zusätzlich zur Durchflusszytometrie erfolgte eine Auswertung klinischer Nierenfunktionsparameter.

Ergebnisse: Obwohl die Hirntodinduktion keinerlei Auswirkung auf definierte Zellkompartimente des adaptiven Immunsystems zeigte (T- und B-Zellen), konnten signifikant verminderte Frequenzen von Dendritische Zellen (MHCI+CD11c+) in Herz und Niere nachgewiesen werden (Herz SH: 9,6%±2,2; Herz BD 6,4%±1,9; Niere SH: 37,5%±6,3; Niere BD: 22,9%±6,0; $P < 0,01$ jeweils). Obwohl dies in der Leber nicht zu beobachten war, zeigte

sich hier eine deutliche Migration von NK-Zellen (NKp46+ CD3-) aus dem Organ (Leber SH: 23,8%±4,6; Leber BD 12,9%±3,1; $P < 0,01$). Im syngenem Nierentransplantationsmodell konnten wir zeigen, dass durch die Transplantation per se die Nierenfunktion eingeschränkt war (Harnstoff: $P < 0,05$; Kreatinin: n.s.), dies aber durch den Spenderhirntod nicht beeinflusst wurde. Die untersuchten inflammatorischen Gene zeigten nach 20 Stunden Reperfusion keinerlei Unterschiede zwischen den Gruppen (BD-Spender, SH-Spender, unbehandeltes Tier). Neben abermals unveränderten T- und B-Zellfrequenzen zeigten sich interessanterweise eine signifikant reduzierte Anzahl von NK Zellen und DCs in der Niere ($P < 0,01$; $P < 0,001$). Gleichzeitig war eine Reduktion von NK-Zellen in der Milz zu beobachten ($P < 0,001$). Im Vergleich zur ventilierten Kontrollgruppe wurden diese Effekte allerdings nicht durch den Hirntod verstärkt.

Schlussfolgerung: Zusammenfassend betrachtet zeigen unsere Ergebnisse konträre Einsichten in die Pathophysiologie des Spenderhirntodes. Während der Spenderhirntod zu einer Zellmigration aus soliden Organen führt, ist keine Akzeleration des Ischämie-/Reperfusionsschadens durch den Hirntod zu beobachten.

047 **ROLE OF MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASES (MAPKS) AND PKC IN THE ACTIVATION OF P66SHC: A NOVEL APPROACH FOR THE PREVENTION OF ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY (IRI)?**

Sana Khalid¹, Muhammad Ashraf¹, Martina Haller¹, Katarzyna Koziel¹, Marion Enthammer¹, Martin Hermann^{2,3}, Marco Thurner¹, Leopold Kremser⁴, Herbert Lindner⁴, Jakob Troppmair¹

¹Daniel Swarovski Research Laboratory, Department of Visceral-, Transplant- and Thoracic Surgery; ²Department of Anesthesiology and Critical Care Medicine; ³Department of Pediatrics II; ⁴Division of Clinical Biochemistry, Biocenter, Innsbruck Medical University (IMU)

Background: Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) produced during early reperfusion are important triggers for the development of ischemia/reperfusion injury (IRI) in the course of solid organ transplantation. However, antioxidants yielded little clinical benefit in the prevention of IRI, most likely because of the failure to timely and efficiently target to the site of ROS production and action. In our work we are pursuing strategies to limit or prevent the early increase in ROS by targeting intracellular signaling pathways. Cytosolic p66SHC, which translocates to the mitochondria under stress to oxidize cytochrome c, is one of the main sources of ROS under stress conditions. Gene ablation experiments in mice also confirmed its important role in the development of IRI. Here we identified pathways essential for the activation of p66SHC, which may be targeted for therapeutic purposes.

Methods: HL-1 cardiomyocytes and mouse embryonic fibroblasts (MEFs) were exposed to hypoxia/reoxygenation (HR) or pro-oxidant treatment. Intracellular signaling was monitored by phosphorylation-specific antibodies. ROS were detected by MitoTracker Red CM-H2XROS, DCF-DA, or protein-based ROS probes *in vivo* phosphorylation of p66SHC was analyzed by mass spectrometry.

Results: Using MEFs and HL-1 cardiomyocytes we failed to detect the previously reported PKC β -dependent phosphorylation of p66SHC on S36 and instead identified S139 as critical target under oxidative stress. In p66SHC-deficient MEFs reconstituted with the S139A mutant of p66SHC we observed significantly reduced ROS levels. Also MAPK activities (ERK, JNK, p38), p66SHC S36 phosphorylation and ROS production were increased under prooxidant treatment and HR. Inhibition of signaling through MAPKs with specific inhibitors showed a pronounced decrease in p66SHC S36 phosphorylation only for JNK, which also directly interacted with p66SHC. Moreover, JNK inhibition resulted in decreased ROS production and reduced DNA damage. We further confirmed JNK-dependent regulation of p66SHC S36 phosphorylation, ROS production and cell death using JNK 1, 2 deficient MEFs. Finally, the low ROS phenotype of JNK 1, 2 knockout MEFs was reversed by introducing p66SHC mutated in S36E.

Conclusion: Interference with p66SHC activation by targeting upstream pathways (PKC β , JNK) thus may provide a therapeutic approach for decreasing damage to cells and organs during ischemia/reperfusion.

048 **INHIBITION OF THE INTERLEUKIN-6 FACILITATES THE INDUCTION OF TOLERANCE**

Andreas M. Farkas, Nina Pilat, Benedikt Mahr, Karin Hock, Ulrike Baranyi, Ivan Kristo, Thomas Wekerle

Division of Transplantation, Department of Surgery, Vienna General Hospital/ Medical University of Vienna, Vienna, Austria

Introduction: Induction of donor-specific tolerance to avoid negative side-effects of long-term immunosuppression is a major goal in transplantation medicine. Tolerance can be achieved via mixed hematopoietic chimerism. Recently, we have developed a non-cytotoxic approach that induces chimerism and robust tolerance through combination of bone marrow (BM) transplantation (BMT) and recipient T regulatory cells (Tregs) therapy under co-stimulation

blockade. Even though cell therapy is a promising emerging therapeutic option, its translation into clinical routine is impeded by numerous hurdles. Interleukin-6 (IL-6) signalling was shown to inhibit Treg differentiation and can also be inhibited in the clinic by the use of tocilizumab (α IL-6R monoclonal antibody (mAb)). Therefore we want to assess whether the neutralization of IL-6 can substitute for Treg cell therapy.

Methods: Groups of B6 mice ($n = 10$, two independent experiments) were treated with a short-course of rapamycin, α CD154, CTLA4Ig and received 1.5×10^7 Balb/c BM-cells with or without short treatment with an α IL-6 mAb. H-2D^d(Balb/c MHC-I) expression of PBMCs in different leukocyte-lineages was measured to assess chimerism. 4–6 weeks after BM-transplantation mice received heart (Balb/c) and/or skin (Balb/c and C3H) grafts. To assess if α IL-6 treatment promotes Treg differentiation, Treg-frequency was assessed at week 1, 2 and 3 after BM transplantation.

Results: 4 weeks post BMT, multi-lineage chimerism was detectable in 6/10 mice treated with α IL6 compared to 0/20 controls) treated with the same conditioning without α IL-6 ($P = 0.0004$). Chimerism levels were low but stable for 4 months and then started to decrease becoming undetectable thereafter. Additionally the percentage of FoxP3⁺ Tregs was significantly increased in α IL-6 treated mice ($n = 8$) at days 14 ($P = 0.0334$) and 21 ($P = 0.0485$) after BMT compared to mice treated with the same conditioning without α IL-6. Regarding graft survival, chimeric mice accepted donor skin grafts for at least 100 days (follow-up ongoing) while mice without α IL-6 treatment had a median survival of 18.5 days ($P = 0.0013$). Furthermore, chimeric mice accepted their heart grafts for >80 days (follow-up ongoing). Third party (C3H) grafts were promptly rejected in both groups.

Conclusions: These preliminary data suggest that α IL-6 is a very promising surrogate for Treg cell-therapy to induce chimerism and donor-specific tolerance.

049

REGULATORY T CELL THERAPY IMPROVES OUTCOME OF CHRONIC CTLA4IG THERAPY IN MURINE HEART TRANSPLANTATION

Ch. Schwarz, B. Mahr, L. Unger, S. Mayerhoffer, N. Pilat, K. Hock, I. Kristo, K. Aumayr, Th. Wekerle

Department of Surgery, Medical University of Vienna

Introduction: Regulatory T cells (Tregs) play an important role for the maintenance of self-tolerance and the regulation of allogeneic immune responses. The interaction of Tregs with the costimulation blocker CTLA4Ig/belatacept remains poorly understood and concerns persist that CTLA4Ig might block Treg function.

Methods: We developed a regimen of chronic immunosuppression with CTLA4 Ig adapted from the clinically used protocol to investigate the role of Tregs in a stringent model of murine cardiac transplantation.

Results: Chronic CTLA4Ig therapy ($n = 9$) prolonged heart graft survival substantially compared to untreated mice, but eventually grafts were rejected (mean survival 48 days vs. 8 days; $P = 0.022$). Adding adoptive transfer of 3×10^6 CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ recipient nTregs on day 8 after transplant ($n = 7$) prolonged graft survival, resulting in long-term allograft survival ($P = 0.044$).

Discussion: These preliminary results suggest that a single dose of Treg therapy improves outcome achieved with a subtherapeutic regimen of chronic CTLA4Ig monotherapy. These data provide a rationale for combining costimulation blockade and Treg therapy approaches.

050

EXOGENOUS LIPOCALIN-2 RESCUES KIDNEY ALLOGRAFT FROM ACUTE INJURY IN A MURINE MODEL OF RENAL TRANSPLANTATION

Muhammad Imtiaz Ashraf¹, Herbert Maier¹, Stefan Schneeberger¹, Hubert Schwelberger¹, Katja Kotsch¹, Heinz Regele², Johann Pratschke¹, Felix Aigner¹

¹Department of Visceral, Transplant and Thoracic Surgery; ²Institute of Pathology, Innsbruck Medical University (IMU), Innsbruck, Austria

Background: Organ transplantation is invariably linked to the development of ischemia/reperfusion injury (IRI) which is known to negatively influence allograft function in terms of allograft rejection. Lipocalin-2 (Lcn2/NGAL), rapidly produced by injured nephron epithelia, is one of the most promising new markers of renal damage and delayed graft function. Discrepancy exists about the role of Lcn2 in ameliorating or deteriorating IRI, whereas its role in the renal allograft rejection has not been demonstrated so far. Determination of Lcn2 function during IRI and acute allograft rejection could provide new therapeutic options for both application of recombinant Lcn2 and its blockade.

Methods: Murine kidney transplantation was employed to understand the role of Lcn2 in renal IRI and allograft rejection. In syngenic settings male inbred C57Bl/6 wild-type (wt) and Lcn2^{-/-} mice were used, whereas in allogeneic settings BALB/c kidney allografts were transplanted into C57Bl/6 (wt and Lcn2^{-/-}) recipients. Tissue sections were stained with HE and PAS stains and evaluated according to the Banff classification. To estimate kidney function serum creatinine and urea were measured and serum NGAL concentrations were determined by ELISA. Expression of Lcn2 and cytokines was measured by RT-qPCR and IHC analysis. Cell death was assessed by immunostaining the graft tissues with cleaved Caspase-3 antibody and TUNEL staining.

Results: The expression of lcn2 strongly correlated with the extent of renal allograft rejection and the loss of graft function confirming its role as a promising indicator of allograft injury. At post-transplant day-7 histomorphology showed moderate to severe tubulitis, interstitial infiltrate and periarterial lymphocytic aggregates, associated with a substantial increase in serum levels of creatinine, urea and NGAL in the recipients. Perioperative administration of recombinant Lcn2 (rLCN):siderophore:Fe complex (250 mg) to the recipient resulted in functional and morphological amelioration of the allograft. However, no significant differences between C57Bl/6 wt and Lcn2^{-/-} recipients were observed. Daily immunosuppression with CsA (10 mg/kg BW) prevented histomorphologically proven severe acute allograft rejection and rescued the allograft function. Histochemical analyses of the allograft showed reduced caspase-3 activation and less number of TUNEL positive cells in the recipients treated with rLCN2 or CsA.

Conclusion: These results demonstrate that Lcn2 plays an important role in preventing kidney allograft injury, suggesting its therapeutic potential in transplantation medicine.