

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR CHIRURGIE
PROF. DR. MED HANS JÜRGEN SCHLITT
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

POST-HOC-OUTCOME-ANALYSE DER CHRONISCH HEPATITIS-C-VIRUS
INFIZIERTEN PATIENTEN DER SILVER-STUDIE

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Rubertha Rosemarie Krah

2020

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR CHIRURGIE
PROF. DR. MED HANS JÜRGEN SCHLITT
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

POST-HOC-OUTCOME-ANALYSE DER CHRONISCH HEPATITIS-C-VIRUS
INFIZIERTEN PATIENTEN DER SILVER-STUDIE

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Rubertha Rosemarie Krah

2020

Dekan:	Prof. Dr. Dirk Hellwig
1. Berichterstatter:	PD Dr. Jens M. Werner
2. Berichterstatter:	PD Dr. Werner Krutsch
Tag der mündlichen Prüfung:	12.06.2020

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	3
1.1 Epidemiologie des hepatozellulären Karzinoms	3
1.2 Stadieneinteilung	4
1.3 Therapie	6
1.3.1 Onkologische Leberresektion	7
1.3.2 Lebertransplantation bei HCC	8
1.3.3 Lokale Ablationsverfahren	9
1.3.4 Transarterielle Verfahren / Embolisationen	10
1.3.5 Sorafenib-Gabe	11
1.3.6 Therapieentscheidung	11
1.4 Hepatitis-C-Virus-Infektion	12
1.4.1 Übertragungsweg und Infektionsrisiken	12
1.4.2 Klinik/ Krankheitsverlauf	13
1.4.3 Therapie	13
1.5 Immunsuppressiva bei Organtransplantationen	14
1.6 Immunsuppression im Kontext des HCC	17
2. Material und Methoden	19
2.1 Studienprotokoll der SiLVER-Studie	19
2.1.1 Einschlusskriterien der Patientenauswahl	19
2.1.2 Ausschlusskriterien der Patientenauswahl	20
2.1.3 Randomisierung	20
2.1.4 Nachbeobachtung / Follow-up	21
2.1.5 Studienhypothese / Endpunkte.....	22
2.2 Post-hoc-Analyse	23
2.3 Statistik	24
3. Ergebnisse	25
3.1. Post-hoc-Analyse der HCV-positiven Patienten der Randomisierungs-Gruppe A und B	25
3.1.1 Patienten-Charakterisierung	25
3.1.2 Wirkung einer mTOR-Inhibitor-basierten Immunsuppression auf die HCV-RNA	31
3.1.3 Analyse des primären Endpunktes (HCC-freies Überleben) und der sekundären Endpunkte (Gesamt-Überleben und HCC-Rezidiv).....	37
3.2 Post-hoc-Analyse der Gruppen A, B1 und B2	39

3.2.1	Patienten-Charakterisierung der post-hoc-Gruppen.....	39
3.2.2	Wirkung einer mTOR-Inhibitor-basierten Immunsuppression auf die HCV-RNA in den post-hoc-Gruppen A, B1 und B2.....	45
3.2.3	Analyse des primären Endpunktes (HCC-freies Überleben) und der sekundären Endpunkte (Gesamt-Überleben und HCC-Rezidiv) in den post-hoc-Gruppen A, B1 und B2.....	51
4.	Diskussion	54
4.1	Wirkung der Immunsuppression auf die HCV-Replikation	55
4.2	Auftreten eines HCC-Rezidivs nach LTx bei Patienten mit HCV	58
4.3	Erhöhte Transaminasen als Ausdruck der Leberinflammation bei HCV Patienten mit einer primär mTOR-Inhibitor-basierten Immunsuppression.....	61
4.4	HCC-Rezidive nach neuer direkt antiviral wirksamer (DAA) Therapie.....	64
5.	Zusammenfassung	66
6.	Abkürzungsverzeichnis	68
7.	Abbildungsverzeichnis	70
8.	Tabellenverzeichnis	71
9.	Literaturverzeichnis	72
10.	Danksagung	

1. Einleitung

1.1 Epidemiologie des hepatozellulären Karzinoms

Das hepatozelluläre Karzinom (HCC) ist ein primär von den Leberzellen (Hepatozyten) ausgehender bösartiger Tumor der Leber. Im Jahr 2008 lag die jährliche Inzidenz in den Vereinigten Staaten bei etwa 21.000 und in Europa bei etwa 65.000 neuen Fällen. Die Inzidenz ist steigend, so wird bis zum Jahr 2020 mit bis zu 27.000 neuen Fällen in den Vereinigten Staaten bzw. 78.000 neuen Fällen in Europa gerechnet.(1) In den Vereinigten Staaten hat sich seit den frühen 1980er Jahren die Inzidenz des HCCs nahezu verdreifacht und ist somit zu einem der am schnellsten angestiegenen Gründe eines krebsbedingten Todes geworden.(2) Weltweit hat es sich zur zweithäufigsten Ursache eines krebsbedingten Todes entwickelt.(1,3) Die Wahrscheinlichkeit an einem HCC zu erkranken ist bei Männern etwas höher als bei Frauen. Bei männlichen Patienten handelt es sich um die fünfhäufigste Krebsart, bei weiblichen Patienten um die neunthäufigste Krebsart.(3)

Aus den Hauptrisikofaktoren des HCC lässt sich gleichzeitig zum Teil die geografische Verteilung ableiten. Ein großer Anteil ist in Entwicklungsländern, insbesondere in Regionen wie Ostasien und in Afrika südlich der Sahara zu finden. Hier herrscht eine hohe Rate an chronischen Infektionen mit dem Hepatitis-B-Virus (HBV). Zu den größten Risikofaktoren an einem HCC zu erkranken, gehören die Infektion mit Hepatitis-B-Virus und/ oder Hepatitis-C-Virus (HCV), sowie alkoholbedingte Lebererkrankungen (alkoholische Steatohepatitis, ASH) und nicht-alkoholbedingte Fettlebererkrankungen (nicht alkoholische Steatohepatitis, NASH). Zu den weniger häufigen Risikofaktoren gehören hereditäre Hämochromatose, Alpha-1-Antitrypsin-Mangel, Autoimmunhepatitis (AIH), einige Porphyrien und Morbus Wilson.(4) Eine Gemeinsamkeit dieser Erkrankungen ist, dass sie längerfristig über einen fibrotischen Umbau des Leberparenchyms zu einer Leberzirrhose führen können. Die Leberzirrhose wiederum stellt den Hauptrisikofaktor für das Entstehen eines HCC dar. Aus diesem Grund zählt eine Leberzirrhose zu den Präkanzerosen. In gewissen Fällen entsteht ein HCC jedoch auch ohne vorangegangene Leberzirrhose. Bei Patienten mit einer NASH kann das Auftreten eines HCC auch vor Entstehung einer Fibrose oder Zirrhose beobachtet werden.(5) Bei der

Prognose des hepatozellulären Karzinoms hängt es stark davon ab, zu welchem Zeitpunkt die Diagnose gestellt werden kann und welche Behandlung möglich ist.(6)

1.2 Stadieneinteilung

Einteilungssysteme um Karzinome verschiedenen Stadien zuordnen zu können, helfen eine Prognose über den Krankheitsverlauf zu geben und eine richtige Therapieentscheidung zu treffen. Es gibt verschiedene Systeme um maligne Tumore in ihre unterschiedlichen Stadien einzuteilen.

Ein bekanntes Standardsystem in der Onkologie ist das TNM-System. Hierbei erfolgt die primäre Einteilung entsprechend der drei Buchstaben. T (Ausdehnung des Primärtumors), N (Nodus lymphoideus/ regionale Lymphknoten) und M (Fernmetastasen). Auf das HCC angewendet, wird eingeteilt in T0 (kein Primärtumor), T1 (T1a ein HCC-Herd, $\leq 2\text{cm}$; T1b ein HCC-Herd $> 2\text{cm}$, keine vaskuläre Infiltration), T2 (ein HCC-Herd $> 2\text{cm}$, mit Gefäßinfiltration oder mehrere HCC-Herde, keiner $> 5\text{cm}$), T3 (mehrere HCC-Herde, davon mindestens einer $> 5\text{cm}$) und T4 (einzelne oder mehrere HCC-Herde beliebiger Größe, welche die V. portae oder V. hepatica infiltrieren, oder ein/ mehrere HCC-Herde mit direkter Infiltration umliegender Organe (außer der Gallenblase) oder mit Perforation des viszeralen Peritoneums), NX (regionale Lymphknotenmetastasen nicht beurteilbar) N0 (keine regionalen Lymphknotenmetastasen), N1 (regionale Lymphknotenmetastasen) und M0 (keine Fernmetastasen) und M1 (Fernmetastasen).(7)

Werden Resektate histopathologisch untersucht, ist es möglich anhand der daraus resultierenden Ergebnisse eine morphologische Einteilung in die pTNM-Klassifikation vorzunehmen. Dadurch können die Ausmaße der mikrovaskulären Tumorinvasion dargestellt werden, die mittels klinischer und radiologischer Untersuchungen nicht erfasst werden können. Die morphologische Einteilung der pTNM-Klassifikation setzt jedoch einen chirurgischen Eingriff voraus und bietet keinerlei Aussagekraft über die noch vorhandene Leberfunktion und den körperlichen Leistungszustand des Patienten. Bei an HCC erkrankten Patienten spielen letztere Faktoren jedoch eine entscheidende Rolle, um eine Einschätzung über den weiteren Krankheitsverlauf und eine Prognose treffen zu

können.(8) Neben einer ganzen Reihe anderer Einteilungsverfahren wie der französischen Klassifikation, CLIP (Cancer of the Liver Italian Program), CUPI (The Chinese University Prognostic Index), HKLC (Hong-Kong Liver Cancer) und JIS (Japan Integrated Staging) ist die Einteilung nach der Barcelona-Klassifikation (BCLC, Barcelona Clinic Liver Cancer) jene, durch welche die klinische Therapieentscheidung maßgeblich beeinflusst wird.(1) Die BCLC-Klassifikation unterteilt in die Stadien 0 - sehr früh, A - früh, B - intermediär, C - fortgeschritten und D - Terminalstadium. Diese Klassifikation vereint Informationen über das Tumorstadium, welches durch Größe und Anzahl von Herden, Gefäßinfiltration und extrahepatischen Metastasen beschrieben wird, den gesundheitlichen Allgemeinzustand des Patienten, definiert durch die ECOG-Klassifikation (Eastern Cooperative Oncology Group) und den Zustand der Leberfunktion, bestimmt durch die Child-Pugh-Kriterien.

Die ECOG-Klassifikation wiederum unterteilt den physischen Allgemeinzustand des Patienten in die Stadien 0 (keine Aktivitätseinschränkung, Zustand wie vor der Erkrankung), 1 (Einschränkung bei körperlicher Anstrengung, gehfähig, leichte körperliche Arbeit ist möglich), 2 (Selbstversorgung möglich, gehfähig, arbeitsunfähig, kann > 50% der Wachzeit aufstehen), 3 (Selbstversorgung nur begrenzt möglich, \geq 50% der Wachzeit an Bett oder Stuhl gebunden), 4 (keinerlei Selbstversorgung möglich, pflegebedürftig, völlig an Bett oder Stuhl gebunden) und 5 (tot).(9)

Bei den Child-Pugh-Kriterien wird die Leberfunktion anhand von drei Laborwerten (Serum-Albumin, Serum-Bilirubin, Quick-Wert/ INR) und zwei klinischen Parametern (hepatische Enzephalopathie und Aszites) in die Stadien A, B und C unterteilt. Jedes dieser Kriterien erhält einen Punktwert zwischen 1-3, wobei somit insgesamt 5-15 Punkte erreicht werden können und dementsprechend eine Aufteilung in die Child-Pugh-Stadien A (5-7 Punkte), B (8-10 Punkte) und C (11-15 Punkte) vorgenommen wird.(10,11)

Fasst man die oben aufgeführten Punkte zusammen, so bedeutet das **BCLC-0**-Stadium (Very Early Stage, Stage 0), dass ein einziger HCC-Herd mit einem Durchmesser < 2cm, ohne vaskuläre Infiltration, bei gutem Allgemeinzustand des Patienten (ECOG-0) und gut erhaltener Leberfunktion (Child-Pugh A) vorliegt. Das **BCLC-A**-Stadium (Early Stage, Stage A) entspricht einer Patientengruppe

mit einem einzigen HCC-Knoten > 2cm oder drei Knoten < 3cm im Durchmesser, ebenfalls ECOG-0 und Child-Pugh A-B. Das **BCLC-B**-Stadium (Intermediate Stage, Stage B) erfasst Patienten mit multinodulärem HCC, ohne extrahepatische Metastasen, ohne vaskuläre Infiltration und ebenfalls Child-Pugh A-B. Zum **BCLC-C**-Stadium (Advanced Stage, Stage C) gehören Patienten mit multinodulärer Tumorentwicklung, Gefäßinfiltration, Lymphknotenbeteiligung (N1) oder Metastasen (M1), ECOG 1-2 und Child-Pugh A-B. Das **BCLC-D**-Stadium (Terminal Stage, Stage D) erfasst Patienten mit ECOG 3- 4 und durch Zirrhose erheblich eingeschränkter Leberfunktion, Child-Pugh C.(12) Ein weiteres ergänzendes Einteilungssystem sind die Milan-Kriterien. Bei gleichzeitig von einer Leberzirrhose betroffenen Patienten, werden sie angewendet, um die therapeutische Erfolgsaussicht einer Lebertransplantation (LTx) abschätzen zu können. Gemäß dieser Kriterien sollte ein einzelner Tumorherd im Durchmesser < 5cm sein. Liegen bis zu drei HCC-Herde vor, verringert sich der maximal zulässige Durchmesser jeweils auf < 3cm. Des Weiteren sollten keine extrahepatischen Metastasen und keine Gefäßinfiltrationen (z.B. der Pfortader oder Lebervenenhauptäste) vorliegen.(13)

1.3 Therapie

Aus der zuvor dargestellten Einordnung des Tumors ergibt sich schließlich die entsprechende Therapieentscheidung. Bei den Therapiemöglichkeiten wird zwischen kurativen und palliativen Maßnahmen unterschieden. Bei rechtzeitiger Diagnosestellung ist eine kurative Behandlung möglich. Wird die Diagnose jedoch erst aufgrund bereits aufgetretener Symptome, wie zum Beispiel Leberversagen, Gelbsucht oder Verschlechterung des Allgemeinzustandes gestellt, ist eine Heilung häufig nicht mehr möglich.(14) Bei den kurativen Therapieverfahren wird einerseits zwischen chirurgischen Verfahren, wie Resektion und LTx, andererseits den lokal ablativen Therapiemöglichkeiten unterschieden. Palliativ orientierte Therapieansätze umfassen die transarterielle Chemoembolisation (TACE), die Behandlung mit Sorafenib oder „best supportive care“ (BSC).

1.3.1 Onkologische Leberresektion

Bei der onkologischen Leberresektion wird zwischen dem Verfahren der atypischen und der anatomischen Resektion unterschieden. Die atypische Leberresektion berücksichtigt keine anatomisch-funktionellen Grenzen, sondern orientiert sich nur am pathologischen Befund. Oberflächlich kleine Herde werden muldenförmig ausgeschält (Wedge-Resektion), randständige mittels Keilresektion entfernt. Bei der anatomischen Resektion werden funktionell autonome Parenchymsegmente vollständig entfernt, wobei zwischen der sektor- und segmentorientierten Resektion unterschieden wird. Bei jeder Resektion wird durch den Sicherheitsabstand auch gesundes Gewebe entfernt, dies wiederum grenzt die Indikation zur Resektion bei Patienten mit Leberzirrhose ein, da in den meisten Fällen nicht genügend Gewebe zur Aufrechterhaltung der Leberfunktion übrig bleiben würde. Ein Abstand von 2cm erzielt ebenfalls bessere Ergebnisse als ein Abstand von < 1cm. Als weitere Voraussetzung gilt ein Bilirubin-Wert < 2mg/dL, eine Thrombozytenzahl > 100/nL und keine portale Hypertension > 10mmHg. Als Kontraindikationen gelten der Befall aller drei Lebervenen (V. hepatica sinistra/ media/ dextra) und das Vorliegen extrahepatischer Metastasierung.(15)

Unter der Voraussetzung einer sorgfältig ausgewählten Patientengruppe liegt die Fünf-Jahres-Überlebensrate bei 60-80%. Auch nach erfolgreicher Resektion, liegt die Rezidivrate nach fünf Jahren jedoch bei ungefähr 70%. Dieses lässt sich darauf zurückführen, dass die der Tumorentstehung zugrunde liegende chronische Lebererkrankung bestehen geblieben ist und somit das Risiko für ein neues HCC bildet. Im ersten Jahr nach der Resektion sollte deshalb eine regelmäßige Kontrolle vierteljährlich erfolgen.(1,15,16) Zu einem Großteil der Rezidivfälle (60-70%) gehören jedoch nicht *de novo* HCC, sondern zum Zeitpunkt der Resektion nicht detektierte Metastasen.(17) Bei Patienten die unter BLCB 0 und A fallen, gilt die Leberresektion als bevorzugte Therapie.

1.3.2 Lebertransplantation bei HCC

Die LTx zählt zu den kurativen Therapieverfahren. Mittels einer LTx gelingt es nicht nur den/ die HCC-Herd(e) zu entfernen, sondern gleichzeitig auch die dem HCC zugrunde liegende chronische Lebererkrankung zu therapieren. Aus onkologischer Sicht handelt es sich infolgedessen um die beste Therapiemöglichkeit. Insbesondere für Patienten mit einer fortgeschrittenen Leberfibrose oder Zirrhose ist eine LTx die einzige kurative Therapiemöglichkeit. Die Fünf-Jahres-Überlebensrate liegt zwischen 65%- 80%.(1,13)

Im Jahre 1967 gelang es dem amerikanischen Chirurgen Thomas E. Starzl erstmals eine erfolgreiche LTx am Menschen durchzuführen. Die postoperative Überlebenszeit des Patienten lag bei einem Jahr. Im Jahr 1963 hatte er bereits die weltweit erste LTx am Menschen gewagt, wobei dieser Patient jedoch noch während der Operation verstarb. Im Jahr 1969 gelang es dann J. S. Lee und Alfred Gütgemann, dem damaligen Chefarzt der Chirurgischen Universitätsklinik Bonn, erstmals in Deutschland eine menschliche Leber erfolgreich zu transplantieren.(18,19) Seit den Anfängen der LTx sind über 50 Jahre vergangen, allein im Jahr 2015 wurden laut WHO 27759 LTx durchgeführt.(20) Das Ungleichgewicht zwischen potentiellen Empfängern und zur Verfügung stehenden Spenderlebern stellt wie auch bei anderen Organen weltweit ein Problem dar. Auf dieser Problematik basierend und aufgrund dessen, dass die Leber ein regeneratives Organ ist, entwickelten sich das Split-Lebertransplantationsverfahren und die Leberlebendspende. Im Jahr 1988 gelang es Rudolf Pichlmayr in Hannover erstmals das Split-Leberverfahren durchzuführen. Dieses Verfahren bietet den Vorteil mit einem Spenderorgan zwei Patienten behandeln zu können. Aufgrund der anatomisch kleineren Größe ist der linke Leberlappen vor allem für die Transplantation bei Kindern, der rechte als Transplantat bei Erwachsenen geeignet. Aus denselben Überlegungen heraus hat sich auch das Verfahren der Leberlebendspende entwickelt.(21,22) Seit Beginn der LTx hat sich die Überlebensrate nach einem Jahr laut einer Studie aus dem Jahr 2002 auf knapp 90% gesteigert.(23) Dies liegt vor allem darin begründet, dass sich die chirurgischen Möglichkeiten, die Auswahl geeigneter Spender und Empfänger, die Organaufbereitung und die Immunsuppression weiterentwickelt haben.

1.3.3 Lokale Ablationsverfahren

Unter lokaler Ablation versteht man örtliche, den Tumor zerstörende Verfahren. Diese finden Anwendung, wenn chirurgische Maßnahmen wie Resektion oder Transplantation nicht in Frage kommen. Sie werden allerdings auch als überbrückende Maßnahme („bridging“) bis zu einer LTx eingesetzt, um während der Wartezeit auf eine Spenderleber das weitere Tumorwachstum zu verhindern.(17) Hierbei kann man weiter zwischen thermischen und chemischen Verfahren unterscheiden.

Die Radiofrequenz-Ablation (RFA) ist ein Verfahren, bei dem mittels einer Sonde, CT- oder ultraschallkontrolliert, Radiofrequenzwellen in das Tumorgewebe eingebracht werden. Dabei wird das Tumorgewebe auf über 100°C erhitzt, um es zu veröden. In Abhängigkeit der Rahmenbedingungen, der Lage des Tumors, dem Zustand der Leber und dem Allgemeinzustand des Patienten stellt bei einzelnen Tumorherden in einer Größe von 2- 3 cm eine RFA somit eine Alternative zur Resektion dar.(1)

Die Mikrowellen-Ablation (MWA) ermöglicht durch elektromagnetische Energie noch höhere Temperaturen (bis zu 160°C) auf das Tumorgewebe auszuüben. Die MWA ist weniger anfällig für einen lokalen Hitzeabfall und eignet sich aus diesem Grund besonders für Tumorherde an nahegelegenen großen Gefäßen (V. portae hepatis, Lebervenenstern), welche bei der RFA für schnelleren Hitzeabfall sorgen.(1)

Perkutane Ethanol Injektion (PEI) ist ein chemisches Ablationsverfahren, bei dem das Tumorgewebe ebenfalls CT- oder ultraschallkontrolliert mit einer feinen Nadel punktiert wird, um eine 95%ige Ethanol-Injektion in das Tumorgewebe zu injizieren. Zelluläre Dehydrierung, Proteindenaturierung und chemischer Verschluss der kleinen Tumorgefäße führen schließlich zur koagulativen Nekrose des Tumors.(12) Diese Behandlungsform wird in mehreren Sitzungen im Abstand von zwei bis vier Wochen durchgeführt und muss in der Regel nach einigen Monaten wiederholt werden. Sie stellt insbesondere bei Tumorherden < 2cm, wenn eine thermische Ablation nicht durchführbar ist, eine Therapieoption dar. Beide Verfahren erzielen bei Tumoren ≤ 2 cm mit 90-100%iger Nekrose sehr gute Ergebnisse.(1,14)

1.3.4 Transarterielle Verfahren / Embolisationen

Es wird zwischen transarterieller Embolisation (TAE) und Chemo-Embolisation (TACE) unterschieden. Die TACE wird bei nicht resektablen und nicht lokal ablativ behandelbaren, zu großen, oder multifokalen Tumorherden eingesetzt. Sie gehört zu den palliativen Therapieverfahren. Hierbei wird ein Katheter über die A. femoralis bis zur Leberarterie eingeführt. Auf diese Weise ist es möglich bis in die kleineren Arterien zu gelangen, durch welche die entsprechenden Tumorherde mit Blut versorgt werden. Das den Tumor versorgende Gefäß wird durch, über den Katheter eingebrachte, kleine Partikel verschlossen (Embolisation). Solche Partikel (Embolisate) sind beispielsweise Gelfoam-Partikel oder Polyvinyl-Alkohol-(PVA)-Partikel, welche sich nochmals in ihrer Form (sphärisch/ amorph) und Größe unterscheiden lassen. Es handelt sich um eine TACE, wenn gleichzeitig über den Katheter ein Chemotherapeutikum im Tumorgewebe appliziert wird. Dieses hat zusätzlich einen zytotoxischen Effekt zur Folge. Hierdurch soll möglichst die vollständige Devaskularisierung und dadurch das Absterben des betroffenen Tumorareals erreicht werden. Wie viele TACE-Behandlungen notwendig sind steht individuell in Abhängigkeit von der Größe und der Anzahl der einzelnen Tumorherde.(1,8)

Die TACE wird nicht nur palliativ eingesetzt, sondern ebenfalls als überbrückende Maßnahme bei Wartelisten-Patienten, in frühen HCC-Stadien vor einer LTx, angewendet. Das fortschreitende Wachstum des Tumors (über die Milan-Kriterien hinaus) soll auf diese Weise verhindert bzw. kontrolliert werden (bridging/ downsizing). Des Weiteren wird eine TACE eingesetzt, wenn eine LTx, Leberresektion oder Ablation nicht möglich ist. Häufige Nebenwirkungen sind ein Postembolisationssyndrom mit ischämiebedingten Komplikationen und Symptomen wie Bauchschmerzen, Übelkeit, Erbrechen und Fieber.(24)

Die selektive intra-arterielle Radiotherapie (SIRT) ist ein Verfahren, bei dem über die Leiste, durch einen Katheter, radioaktive Mikrosphären mit Yttrium-90 in die tumorversorgenden Arterien eingebracht werden. Hierdurch wird einerseits eine mechanische Ablation erzielt und andererseits das betroffene Gewebe gezielt bestrahlt bzw. therapiert.(8)

1.3.5 Sorafenib-Gabe

Der Multi-Kinase-Inhibitor Sorafenib wird bei inoperablen HCC-Herden eingesetzt. Sorafenib blockiert den auf vielen Leberkrebszellen befindlichen Rezeptor für Wachstumsfaktoren, wodurch das Wachstumssignal gehemmt wird. Die Hemmung der Kinaseaktivität wirkt auf die Tumorzellen und das Gefäßsystem des Tumors antiproliferativ und antiangiogenetisch. Das Fortschreiten des HCC kann nicht völlig gestoppt werden, jedoch verlangsamt.(25) In der palliativen Therapie hat sich die Sorafenib-Gabe als Standardtherapieverfahren etabliert.(17)

1.3.6 Therapieentscheidung

Welche der vorgestellten Therapieverfahren letztendlich Anwendung finden, wird mit Hilfe der ebenfalls vorgestellten Einteilungsverfahren, gemäß der Einstufung nach der BCLC-Klassifikation beurteilt.

Patienten im sehr frühen Stadium **BCLC 0** wie auch Patienten im Frühstadium **BCLC A** haben eine sehr gute Aussicht auf Heilung. Aus diesem Grund findet bei dieser Patientengruppe eine kurative Therapiestrategie wie Resektion, LTx oder Ablation, Anwendung.(14,17,26)

Bei Patienten im Intermediärstadium **BCLC B** gilt grundsätzlich die Therapie mit einer TACE als Behandlungsmethode der Wahl. Teilweise werden auch ablativ Verfahren, wie beispielsweise die RFA, als ergänzende Verfahren angewendet.(14,17,26)

Für Patienten im fortgeschrittenen Stadium **BCLC C** gilt die Gabe von Sorafenib als Therapie der Wahl.(14,17,26)

Patienten im Terminalstadium **BCLC D** werden unter der Therapiestrategie „best supportive care“ symptomatisch-palliativ versorgt.(14,17,26)

1.4 Hepatitis-C-Virus-Infektion

Das Hepatitis-C-Virus ist ein RNA-Virus und gehört zur Familie der Flaviviridea. Im Jahr 1988 wurde es erstmals als HCV klassifiziert und somit nicht mehr nur als Hepatitis-non-A-non-B geführt.(27) Aus seiner hohen Mutationsrate ergibt sich seine genetische Vielfalt mit sieben verschiedenen Genotypen und 67 Subtypen.(28) Weltweit sind ungefähr 170 Millionen Menschen von einer HCV-Infektion betroffen.(29)

1.4.1 Übertragungsweg und Infektionsrisiken

Der Blutkontakt ist der hauptsächliche Übertragungsweg des HCV, durch den sich auch die Risiken einer Infektion ergeben. Eine mögliche Übertragung durch kontaminierte Blutprodukte stellt seit Einführung der diagnostischen Testung von Blutprodukten im Jahr 1991 in Deutschland kein relevantes Risiko mehr dar. Weltweit besteht das höchste Übertragungsrisiko beim intravenösen Drogengebrauch mit gemeinsam benutztem Spritzenbesteck und nosokomialer Übertragung durch unsichere medizinische Injektionen.(30) HCV ist umweltstabil, wodurch auch der nicht intravenöse Drogenkonsum mit gemeinsam genutzten Utensilien wie Filtern, Löffeln, Pfännchen, Röhrchen etc. ein Infektionsrisiko darstellt.(31,32) Des Weiteren sind Nadelstich- und Schnittverletzungen mit HCV-kontaminierten Kanülen/ chirurgischen Instrumenten bei medizinischem Personal zu erwähnen.(33) Hierbei variiert das Risiko jedoch mit der Tiefe der Verletzung, der übertragenen Blutmenge und der Viruslast des Indexpatienten. Verletzungen an Schleimhäuten ermöglichen die Übertragungen des HCV. Diese können bei ungeschütztem Sexualkontakt oral, vaginal und anal entstehen. Auch ein perinataler Infektionsweg ist möglich, wobei die Infektionsübertragung während der Geburt wahrscheinlicher ist, als die vertikale Virustransmission über die Plazenta. Ebenso die Übertragung während der Stillzeit bei hoher Viruslast der Mutter durch blutende Verletzungen an der Mamille. In Abhängigkeit von der Viruslast im Blut kann auch in anderen Körperflüssigkeiten wie Sperma, Speichel, Schweiß oder Tränen das HCV nachgewiesen werden. Eine Infektion hierdurch ist jedoch eher unwahrscheinlich.(34)

1.4.2 Klinik/ Krankheitsverlauf

Beim klinischen Verlauf wird zwischen einer akuten und chronischen Form unterschieden. Der akute Krankheitsverlauf geht zumeist mit klinisch milden Symptomen einher und wird aufgrund dessen selten diagnostiziert. Die Symptome reichen von leichten grippeähnlichen Beschwerden wie Müdigkeit, Appetitlosigkeit, Gelenkschmerzen bis hin zu Oberbauchbeschwerden, dunkelgefärbten Urin und Ikterus. Bei länger als sechs Monaten fortbestehender Infektion spricht man von einer chronischen Form. Dieser Verlauf wird bei ca. 60-85% der Infektionen beobachtet.(34) In 15-40% hingegen entwickelt sich die akute Form nicht zu einer chronischen, sondern heilt spontan aus.(35) Die chronische HCV-Infektion ist eine durch Viren verursachte chronische Entzündung der Leber. Es ist eine langsam voranschreitende Krankheit, welche in vielen Fällen im Laufe der Jahre mit der Entwicklung einer Fibrose und Leberzirrhose einhergeht, worin dann wiederum eine der Hauptursachen für die Entstehung eines HCC liegt. Die Zirrhose-Rate liegt über einen Zeitraum von 20-30 Jahren chronischer HCV-Infektion bei 10-20%.(35)

1.4.3 Therapie

Bei den Therapiemöglichkeiten kann zwischen den therapeutischen Möglichkeiten vor Einführung der direkt antiviral wirksamen Medikamenten (direct acting antivirals, DAAs) und der auf Interferon (IFN) basierten Therapie in den Jahren zuvor unterschieden werden. Lange Zeit war die Kombinationstherapie aus Interferon- α , später pegyliertem Interferon- α und Ribavirin, die Standardtherapie der chronischen HCV-Infektion. Die Therapie mit den neuen DAAs wird als nebenwirkungsärmer angesehen und gilt mittlerweile als Therapiestandard bei der chronischen HCV-Infektion. Die Erfolgsraten für eine Ausheilung der HCV-Infektion liegen bei den DAAs bei über 95%.(36) Besteht kein anhaltendes virologisches Ansprechen (sustained virological response, SVR) nach bereits erfolgter interferonbasierter Therapie, kann eine DAA-Therapie ebenfalls indiziert sein.(34,37) Bei Patienten, die sich bereits im Endstadium einer chronischen HCV-Infektion mit dekompensierter Leberzirrhose befinden ist die Therapie der Wahl die LTx.(35)

1.5 Immunsuppressiva bei Organtransplantationen

Wie in 1.3.2 bereits angesprochen, leistete die passende Immunsuppression einen wichtigen Beitrag zur Steigerung der Erfolgsrate bei Organtransplantationen. Passend bedeutet, dass zum Therapiestandard gehört, eine Kombination verschiedener immunsuppressiver Medikamente individuell auf jeden Patienten abzustimmen. Ziel ist es eine ausbalancierte Dosierung zu erreichen, um sowohl eine Überimmunsuppression als auch eine Unterimmunsuppression zu verhindern. Das Übereinstimmen der Blutgruppen von Organspender und Empfänger allein reicht nicht aus, um eine Abstoßungsreaktion gegen das transplantierte Organ zu vermeiden. Immunsuppressiva senken die Immunabwehr des Körpers, wodurch verhindert wird, dass der Körper des Empfängers das transplantierte Organ als fremd identifiziert und es zu einer Abstoßungsreaktion kommt.(38)

Seit Einführung der Immunsuppressiva gegen Ende der 1970er Jahre hat sich das Risiko einer akuten Abstoßungsreaktion entscheidend verringert und damit Organtransplantationen überhaupt möglich gemacht.(21,39) Welches bzw. welche Kombination aus Immunsuppressiva eingesetzt wird, hängt unter anderem vom jeweiligen Zeitpunkt nach der Transplantation ab. Im Allgemeinen ist eine lebenslange Behandlung durch Immunsuppressiva erforderlich.(21)

Es gibt eine Vielzahl verschiedener immunsupprimierender Substanzen, welche unterschiedliche Wirkmechanismen aufweisen und an unterschiedlichen Stellen des Immunsystems ansetzen. Um zu Beginn der Therapie, in der sogenannten Induktionstherapie, eine möglichst hohe Wirkstoffkonzentration im Blut zu erreichen, wird in der Regel eine Kombination aus drei bis vier verschiedenen immunsuppressiven Medikamenten verabreicht. Das Ziel der Kombination aus verschiedenen Immunsuppressiva ist es, mit einer möglichst niedrigen Einzeldosis die Nebenwirkungen gering zu halten, eine hohe Wirkung zu erzielen und somit durch die verschiedenen Wirkmechanismen das Risiko der Transplantatabstoßung zu minimieren. Ist das Transplantat erfolgreich angenommen worden, kann in der so genannten Erhaltungstherapie, nach einigen Monaten begonnen werden die Dosis und Anzahl der Medikamente zu reduzieren. Die Erhaltungstherapie wird weiter unterteilt in die frühe und langfristige Erhaltungstherapie.

Zu den am häufigsten verwendeten Immunsuppressiva gehören die Calcineurin-Inhibitoren (CNI). Hierzu zählen Cyclosporin A (CsA) mit Sandimmun® / Sandimmun Optoral® und Tacrolimus (FK506) mit Prograf® / Advagraf®. Zu der Gruppe der mTOR-Inhibitoren (mammalian/ mechanistic Target of Rapamycin) gehört Sirolimus (SRL) mit Rapamune®. Andere Bezeichnungen sind Rapamycin und RAPA. Weitere Immunsuppressiva sind Mycophenolatmofetil (MMF) mit Cellcept® / Myfortic® und Corticosteroide. Um initial die Dosierung der CNI gering zu halten, werden ebenfalls Interleukin-2-Rezeptor-Antikörper wie Basiliximab (Simulect®) eingesetzt.(40)

Durch Cyclosporin A und Tacrolimus wird das körpereigene Enzym Calcineurin (eine Serin-Threonin-Phosphatase) blockiert. Über die Dephosphorylierung von NF-AT (nuclear factor of activated T-cells) bewirkt Calcineurin über mehrere Schritte die Transkription von Interleukin-(IL)-2, wodurch die T-Lymphozyten über eine intrazelluläre Signalkaskade aktiviert werden. Cyclosporin A (CsA) hemmt Calcineurin in dem es einen intrazellulären Komplex mit Cyclophyllin P bildet. Tacrolimus (FK506) hemmt Calcineurin über die Bindung an das intrazelluläre FK-Binding-Protein FKBP12. Tacrolimus und Sirolimus sind miteinander verwandte Substanzen, ein Makrolidlacton. Sie werden jedoch aus unterschiedlichen Streptomyzeten (*streptomyces hygroscopicus/ streptomyces tsukubaensis*) gewonnen und verfügen über unterschiedliche Wirkmechanismen.(41,42)

Sirolimus (SRL) bindet ebenfalls an das intrazelluläre FK-Binding-Protein FKBP12. Dieser Komplex hemmt das als Kinase aktive Enzym mTOR. Nach Aktivierung durch IL-2 ermöglicht es den Übergang von der späten G1 in die S-Phase des Zellreplikationszyklus, wodurch die Proliferation der T-Zellen ermöglicht wird. Sirolimus verhindert dementsprechend mit einem calcineurin-unabhängigen Mechanismus die T-Zellproliferation. Die Interleukin-Produktion wird nicht inhibiert, wodurch andere Effekte wie die durch IL-2 vermittelte Apoptose erhalten bleiben.(43-45)

Mycophenolatmofetile (MMF) blockieren selektiv die Proliferation von T- und B-Lymphozyten durch die Hemmung der Ionosinmonophosphat-Dehydrogenase (IMPDH). Im Körper wird MMF in den aktiven Wirkstoff Mycophenolsäure (MPA) umgewandelt, ein nicht-kompetitiver und reversibler Hemmer der IMPDH. Der *de*

novo Weg der Guanosin-Nucleotidsynthese wird dadurch gehemmt. Für die Proliferation von T- und B-Lymphozyten ist die *de novo* Synthese von Purinen unverzichtbar. Lymphozyten reagieren empfindlicher gegenüber MPA. MPA wirkt auf sie stärker zytostatisch, als auf andere Zellarten, die in der Lage sind den Wiederherstellungsstoffwechsel („salvage pathway“) nutzen zu können. MMF und mTOR-Inhibitoren sind beide antiproliferative Wirkstoffe.(46,47)

Unter Corticosteroiden sind vom körpereigenen, in der Nebenniere produzierten, Hormon Cortison abgeleitete Medikamente wie Methylprednisolon (Urbason®) und Prednisolon (z.B. Decortin®) zusammengefasst. Sie bewirken die intrazelluläre Hemmung des Transkriptionsfaktors NF-kB (Nuclear Factor k-B), dies bedingt eine Hemmung multipler Entzündungs- und Immunmediatoren (z.B. die Synthese von Interleukinen) und somit eine Senkung der zellulären und humoralen Immunantwort. Des Weiteren wird die Antigenpräsentation gehemmt.(48)

1.6 Immunsuppression im Kontext des HCCs

Wenngleich der Einsatz der Immunsuppressiva einen signifikanten Beitrag zur Steigerung des Transplantatüberlebens liefert und letztendlich dadurch auch für das weitere Überleben des Patienten entscheidend ist, wurde in den vergangenen Jahren, insbesondere auch durch die deutlich verlängerte Überlebenszeit organtransplantierter Patienten, als Nebeneffekt der Immunsuppression die Entwicklung von *de novo* Malignomen und HCC-Rezidiven beobachtet.(49)

Einerseits kann durch die unterdrückte Immunantwort des Empfängerkörpers eine Abstoßungsreaktion gegen das transplantierte Organ verhindert werden, andererseits werden durch die geschwächte Immunerkennung jedoch auch potenzielle Tumorzellen nicht erkannt(50), ebenso können sich potenziell karzinogene Virusinfektionen ausbreiten.(49)

Infolgedessen werden bei Transplantationspatienten vor allem Karzinome beobachtet, die auf Virusinfektionen basieren. Der Anteil dieser Patientengruppe ist im Verhältnis zur Gesamtbevölkerung besonders bei den folgenden Karzinomen hoch: HCC (HBV/ HCV), Kaposi-Sarkom (humane Herpesvirus Typ 8 (HHV-8)), nicht-melanozytärer Hautkrebs (humane Papillomviren (HPV)), Posttransplantations- Lymphoproliferative Erkrankung (PTLD) (Epstein-Barr-Virus (EBV)) und das Merkelzellkarzinom (Merkelzell-Polyomavirus).(49)

Neben Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Komplikationen durch Infektionen, zählt das Risiko, dass ein Rezidiv oder ein anderes Karzinom entsteht, zu den drei häufigsten Todesursachen bei organtransplantierten Patienten.(51) Auch nach strikter Patientenselektion, mit Berücksichtigung unter anderem der Milan-Kriterien, sind HCC-Rezidive zu beobachten und bei Betrachtung dieser Aspekte nachvollziehbarer geworden.(49) Wenngleich der therapeutische Nutzen der Immunsuppression überwiegt, hat sich dadurch in den letzten Jahren eine neue therapeutische Herausforderung ergeben.

In diesem Zusammenhang werden mittlerweile insbesondere die Immunsuppressiva aus der Gruppe der Calcineurin-Inhibitoren kritisch gesehen. Sie gehören zu den am weitesten verbreiteten Immunsuppressiva, werden jedoch mittlerweile mit karzinogenen und *de novo* HCC-begünstigenden Faktoren verbunden.(52)

Cyclosporine hemmen DNA-Reparaturmechanismen, steigern die Krebszellinvasivität und unterstützen die Angiogenese. Infolgedessen auch diejenige sich neu bildender Tumoren.(50,53)

In Verbindung mit Tacrolimus, wird eine Erhöhung der Proliferationsrate von humanen Hepatomazellen beobachtet. Es liegt jedoch abschließend kein Beweis dafür vor, dass die Calcineurin-Inhibitor Therapie letztlich wirklich eine höhere HCC-Rezidivrate fördert.(54)

Das HCC ist ein Karzinom, das um sich ausdehnen zu können, eine ausgeprägte Vaskularisation benötigt. Aus diesem Grund besteht die Überlegung, dass eine andere Klasse der Immunsuppressiva, die mTOR-Inhibitoren (Sirolimus), welche mit antiangiogenetischen Eigenschaften in Verbindung gebracht werden, einen positiv gegensteuernden Effekt auf die Neubildung eines Malignoms und insbesondere auf die eines HCCs bei lebertransplantierten Patienten ausübt. Neben den immunsupprimierenden Eigenschaften weisen mTOR-Inhibitoren antiproliferative Eigenschaften auf, welche sich ebenfalls hemmend auf die Entstehung eines *de novo* Malignoms auswirken. Durch mTOR wird das Zellwachstum und deren Stoffwechsel reguliert, dies sowohl von normalen als auch neoplastischen Zellen. Neoplasien zeichnen sich häufig durch eine Hyperaktivität dieser Signaltransduktion aus.(49)

Basierend auf der Hypothese, dass eine Immunsuppression auf Grundlage der mTOR-Inhibitoren, insbesondere Rapamycin® (Sirolimus), einen positiven Effekt auf lebertransplantierte Patienten (mit vorangegangener HCC Diagnose) hat, ist die SiLVER-Studie (Sirolimus Use in Liver Transplant Recipients with HCC) entstanden.

2. Material und Methoden

2.1 Studienprotokoll der SiLVER-Studie

Die SiLVER-Studie ist eine multizentrische klinische Studie, die randomisiert kontrolliert, prospektiv und offen durchgeführt wurde. Es wurden aus 45 Transplantationszentren, ansässig in 13 Ländern (Deutschland, Österreich, Frankreich, Spanien, Italien, Belgien, Niederlande, Großbritannien, Schweden, Norwegen, Finnland, Kanada und Australien) insgesamt 523 Patientinnen und Patienten (zur Vereinfachung im weiteren Verlauf nur „Patienten“ genannt) rekrutiert. Die Studie untersuchte den Einfluss einer auf mTOR-Inhibitor-basierten Immunsuppression im Vergleich zu einer nicht auf mTOR-Inhibitor-basierten Immunsuppression bei Patienten die aufgrund eines HCCs eine LTx erhielten. Die Studie wurde für einen Zeitraum von acht Jahren geplant. Der Studienzeitraum setzte sich aus einer dreijährigen Rekrutierungsphase und einer fünfjährigen Nachbeobachtungszeit zusammen. Die Patienten sind vier bis sechs Wochen nach LTx in zwei Patientengruppen randomisiert worden. Gruppe A wurde zentrumspezifisch mit einer nicht auf mTOR-Inhibitoren basierten Immunsuppression behandelt. Gruppe B wurde, vier bis sechs Wochen (zwischen dem 29. Und 42. Tag) nach LTx, auf eine auf mTOR-Inhibitor-basierten Immunsuppression umgestellt, welche dann als Monotherapie oder Kombinationstherapie erfolgte.(54)

2.1.1 Einschlusskriterien der Patientenauswahl

Grundsätzlich wurden alle Patienten, die im jeweiligen Zentrum für eine LTx gelistet wurden, in Hinblick auf ihre Studieneignung überprüft. Hierbei konnten sowohl postmortale LTx, Split-Lebertransplantation als auch Lebendspenden berücksichtigt werden. Weitere allgemeine Teilnahme Kriterien waren die Volljährigkeit, eine unterschriebene Einverständniserklärung zur Studienteilnahme sowie der histologische Nachweis eines HCC vor dem Randomisierungszeitraum. Ebenfalls wurden Patienten in die Studie aufgenommen, bei denen nach therapeutischen Maßnahmen wie z.B. der RFA, TACE oder PEI kein histologischer Nachweis für ein HCC in der explantierten Leber mehr vorhanden war. In diesen Fällen war entscheidend, dass die HCC-

Diagnose vor der jeweiligen Therapie histologisch bestätigt war. Des Weiteren wurden Patienten eingeschlossen, deren histologisch gesichertes HCC prä-LTx außerhalb der Milan-Kriterien war, welches jedoch durch eine erfolgreiche ablative Downstaging-Therapie post-LTx innerhalb der Milan-Kriterien lag.(54)

2.1.2 Ausschlusskriterien der Patientenauswahl

Patienten die mehrere Organe erhielten (Multi-Organempfänger) wurden aufgrund der Anwendung von anderen Immunsuppressions-Schemata und eines nicht vergleichbaren Outcomes von der Studie ausgeschlossen. Ebenso alle Patienten, die in den vorangegangenen fünf Jahren bereits einem anderen malignen Tumor hatten oder bereits eine extrahepatische Tumormanifestation ihres HCC (Metastasierung) aufwiesen. Ausgenommen davon wurde ein erfolgreich behandeltes Basalzell- und Plattenepithelkarzinom der Haut. Frauen in gebärfähigem Alter, die keine Empfängnisverhütung praktizierten, wurden ebenfalls von der Studie ausgeschlossen. Ferner Patienten mit einer bekannten Unverträglichkeit gegenüber Sirolimus und seinen Derivaten. Eine bestehende HIV-Infektion, wie auch andere systemische oder lokale Infektionen, sowie eine nicht behandelbare Hyperlipidämie und eine Thrombozytenzahl $< 75000/\text{mm}^3$ galten als Ausschlusskriterium. Wurden Patienten bereits vor dem 29. Tag post-LTx (Stichtag der Randomisierung) mit Sirolimus behandelt, fielen sie aus den Studienkriterien heraus. Darüber hinaus mussten Patienten ausgeschlossen werden bei denen abzusehen war, dass sie aus persönlichen oder auch geografischen Gründen nicht in der Lage sein würden über den geplanten fünfjährigen Studienverlauf an den entsprechend angesetzten Terminen der Nachbeobachtungszeit teilzunehmen. Des Weiteren wurden Patienten ausgeschlossen die minderjährig oder aus anderen Gründen unter Vormundschaft stehend, nicht selbstständig zur Studienteilnahme einwilligen konnten.(54)

2.1.3 Randomisierung

Nach histologisch nachgewiesener HCC-Diagnose wurde der Patient zwischen post-LTx Woche vier und sechs mittels eines interaktiven Sprachantwortsystems (Interactiv Voice Response System) in die Studiengruppe A oder B eingeteilt. Zur

Sicherung einer eindeutigen Identifizierung erhielt daraufhin jeder Studienteilnehmer einen individuellen Teilnehmercode, eine Patienten-ID. In Gruppe A wurden von diesem Moment an alle Patienten mit einer jeweils zentrumspezifischen Immunsuppression ohne mTOR-Inhibitoren weiterbehandelt. Diese basierte weitestgehend auf Calcineurin-Inhibitoren, im dritten Monat nach erfolgter LTx wurde mit der Reduktion der Steroide begonnen. Wohingegen Gruppe B ab dem 29. bis zum 42. Tag nach LTx eine auf mTOR-Inhibitoren-basierte Immunsuppression erhielt. Dieser Randomisierungszeitraum startete mit dem ersten Patienten im Januar 2006 und endete mit dem letzten im April 2009. Die Therapie startete bei einer Dosis von 5mg/d und wurde auf 2mg/d reduziert. Der angestrebte Sirolimustalspiegel lag bei 4-10 ng/ml. Überprüft wurde der Sirolimusspiegel nach drei bis vier Tagen, anschließend über einen Zeitraum von vier Wochen einmal wöchentlich und letztlich zweimal monatlich. Zeitgleich wurde der Anteil an Calcineurin-Inhibitoren und Mycophenolatmofetil auf 50% gesenkt. Auch in dieser Gruppe wurde eine Reduktion der Steroidgabe im dritten Monat nach LTx empfohlen. In Gruppe B galt die Sirolimus Monotherapie als angestrebtes, jedoch nicht verpflichtendes Ziel. (54,55)

2.1.4 Nachbeobachtung / Follow-up

Im ersten Jahr nach LTx fanden Verlaufskontrollen im ersten, dritten, sechsten, neunten und zwölften Monat statt. Im Anschluss waren halbjährige Kontrolltermine angesetzt. Jeder dieser Termine umfasste standardisierte, tumorspezifische Untersuchungen. Neben einer Überprüfung des körperlichen Allgemeinzustandes, fand eine Ultraschalluntersuchung, ein Röntgen-Thorax, sowie eine ausführliche Analyse der Laborwerte statt. Anhand dieser Untersuchungen wurde das Transplantatüberleben, die Transplantatfunktion, das Vorliegen einer Abstoßungsreaktion und/ oder die Entwicklung von Tumorrezidiven evaluiert. Bei klinisch relevanten Abweichungen der Laborparameter wurden diese mittels Biopsie nachgeprüft. Der Verdacht auf ein HCC-Rezidiv wurde per CT (Computertomografie), MRT (Magnetresonanztomographie), PET (Positronen-Emissions-Tomographie) sowie einer Knochenzintigraphie zur Diagnosesicherung entsprechend der bestehenden Richtlinien kontrolliert.

In Gruppe B wurde zusätzlich der Sirolimustalspiegel überprüft und gegebenenfalls korrigiert. Versäumte ein Studienteilnehmer zwei aufeinanderfolgende Kontrolltermine und war nicht mehr erreichbar wurde ab diesem Moment sein Status in „lost-to-follow-up“ geändert. Fand der letzte Kontakt zu diesem Teilnehmer vor der Diagnosestellung eines Rezidivs statt, wurde das Datum des letzten Kontaktes als Ende der rezidivfreien Überlebenszeit gewertet. Sollte der Kontakt wieder aufgenommen werden konnte, wurde der Status der Überlebenszeit wieder aktiviert, die rezidivfreie Überlebenszeit jedoch nicht. Bei einem dokumentierten Todesdatum wurde der Status in „tot“ benannt. (54,55)

2.1.5 Studienhypothese / Endpunkte

Die der SiLVER-Studie zugrunde liegende Hypothese war, dass eine auf Sirolimus und somit auf mTOR-Inhibitor-basierte Immunsuppression eine Steigerung der HCC-freien Überlebensrate bei lebertransplantierten Patienten bewirkt.

Als primärer Endpunkt der Studie wurde das Überleben des Patienten ohne Rezidiventwicklung (RFS, recurrence free survival) definiert. Dieser Zeitraum wurde eingegrenzt vom Tag der erfolgten LTx bis zum Feststellungstag einer Rezidiventwicklung bzw. Todestag. Patienten, die bis zum letzten Kontrolltermin überlebten und kein Rezidiv entwickelten, erhielten den Status RFS. Als Rezidive galten alle histopathologisch bestätigten oder durch die BCLC-Kriterien beschriebenen Diagnosen. Datumserfassung eines Rezidivs erfolgte am ersten Tag des Tumorverdacht, wobei auch klinische Anhaltspunkte, wie die B-Symptomatik nach Bestätigung durch die BCLC-Kriterien, als Verdachtsmomente gewertet wurden. Daraus ergibt sich ebenfalls, dass sich nicht nur zu den angesetzten Kontrollterminen, sondern jederzeit ein Rezidiv bestimmen ließ.(55)

Als sekundäre Endpunkte der Studie wurden zum einen das Gesamtüberleben des Patienten (OS, overall survival) und zum anderen das RFS/OS in zwei Untergruppen mit besonders hohem und niedrigem Rezidivrisiko definiert. Als Untergruppe mit niedrigem Risiko wurden Patienten zusammengefasst, bei denen ein HCC und eine Leberzirrhose innerhalb der Milan-Kriterien vorliegt. Patienten mit einem HCC in nicht-zirrhotoser Leber, einem HCC außerhalb der

Milan-Kriterien und Patienten bei denen erst nach erfolgter Resektion und Rezidivaufreten eine LTx (Salvage Transplantation) durchgeführt wurde, zählten zur Patientengruppe mit hohem Risiko.(54,55)

2.2 Post-hoc-Analyse

Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich auf Grundlage der SiLVER-Studie mit der Fragestellung, ob bzw. welchen Einfluss eine auf mTOR-Inhibitor-basierte Immunsuppression, nach LTx aufgrund einer bestätigten HCC-Diagnose, auf Patienten mit chronischer HCV-Infektion hat. Ein besonderer Fokus wurde auf die HCV-RNA-Replikationsrate und ein mögliches HCC-Rezidiv gelegt.

Von den insgesamt 525 Patienten aus der SiLVER-Studie lag bei 166 Teilnehmern eine HCV-Infektion vor. Von diesen 166 Teilnehmern befanden sich zum Rekrutierungszeitraum in Gruppe A 88 Teilnehmer und in Gruppe B 78 Teilnehmer. Nachdem in Gruppe A bei fünf Teilnehmern eine mehr als einmalige Sirolimusgabe vorkam, wurden diese aus der post-hoc-Analyse ausgeschlossen. Dementsprechend sind 161 Teilnehmer mit 83 aus Gruppe A und 78 aus Gruppe B in die post-hoc-Analyse einbezogen worden.

Nach einer ersten Outcome-Analyse der Gruppen A und B, erfolgte eine zweite Analyse der Gruppen A, B1 und B2. Die Gruppen B1 und B2 resultierten aus einer weiteren Unterteilung der ursprünglichen Gruppe B. Die 78 Teilnehmer der Gruppe B wurden hierzu weiter aufgeteilt in Gruppe B1 mit 44 Teilnehmern und in Gruppe B2 mit 34 Teilnehmern. Die Teilnehmer, die < 50% der Therapiedauer Rapamune® ohne Calcineurin-Inhibitoren erhalten haben gehören zu Gruppe B1. Dementsprechend gehören die Teilnehmer, die \geq 50% der Therapiedauer mit Rapamune® ohne Calcineurin-Inhibitoren behandelt wurden zu Gruppe B2.

Zu den bereits oben aufgeführten Kontrollterminen prä-LTx, innerhalb des Randomisierungszeitraumes, sowie in den Jahren post-LTx betrachtet diese Arbeit die Werte der Leberenzyme (ALT/ GPT und AST/ GOT), die Cholestaseparameter (γ GT und Bilirubin), den Lebersyntheseparameter (Albumin), den Quickwert und den Tumormarker Alpha-1-Fetoprotein (AFP). Tumor spezifischeren Informationen werden durch die Betrachtung der Anzahl der Tumorherde, ihre maximale Größe, die entsprechende TNM-Klassifikation, ob die Milan-Kriterien erfüllt wurden und ob ein bestätigtes Rezidiv vorlag,

herausgearbeitet. Um HCV-spezifische Informationen zu erhalten wird betrachtet, ob eine Vorbehandlung der HCV-Infektion mit Interferon oder Ribavirin stattfand, welcher HCV-Genotyp vorlag und die Höhe der HCV-RNA-Replikationsrate. Ebenso wird der CMV-Status des Spenders und des Empfängers betrachtet und zu welchem Zeitpunkt, welche Immunsuppression erfolgte.

2.3 Statistik

Die für die post-hoc-Analyse relevanten Daten der HCV-positiven Teilnehmer der SiLVER-Studie wurden für die statistische Auswertung in eine Microsoft Excel Tabelle übertragen und mit Hilfe des Computerprogrammes GraphPad Prism 7.0b (GraphPad Software, Inc., La Jolla, USA) ausgewertet.

Im Rahmen der Datenauswertung wurden kontinuierliche Daten zuerst mit Hilfe des D'Agostino & Pearson Tests auf ihre Normalverteilung hin überprüft und entweder mit dem ungepaarten t-Test bzw. dem Mann-Whitney-U-Test auf eine statistische Signifikanz untersucht. Normalverteilte Daten wurden als Mittelwerte mit Standardabweichung (SD), bei nicht normalverteilten Daten wurde der Median mit Interquartilsabstand (IQR) angegeben. Kategoriale Daten wurden entweder mit dem Fischer-Exakt-Test bzw. Chi-Quadrat-Test analysiert.

Die Analyse der Überlebenszeiten der Gruppen A und B bzw. A, B1 und B2 wurde mit Hilfe der Kaplan-Meyer-Überlebenskurven graphisch dargestellt. Mit dem Gehan-Breslow-Wilcoxon-Test wurde die statistische Signifikanz der Überlebenszeiten analysiert. Ein p-Wert von $\leq 0,05$ galt als signifikant.

3. Ergebnisse

3.1. Post-hoc-Analyse der HCV-positiven Patienten der Randomisierungs-Gruppe A und B

Diese post-hoc-Analyse setzt sich mit der Fragestellung auseinander ob bzw. welchen Effekt eine Immunsuppression mit mTOR-Inhibitoren post-LTx insbesondere bei HCV-positiven Patienten ausübt. Besondere Berücksichtigung fand hierbei die HCV-RNA-Replikationsrate, die HCC-Rezidivrate und die ALT-Werte. Basis dieser Überlegung waren vorangegangene *in vitro* Studien(56,57). Die Einteilung in die Gruppen A und B erfolgte über die entsprechende Randomisierung. Die Gruppe A, die Kontrollgruppe umfasste Studienteilnehmer, die eine zentrumspezifische Immunsuppression überwiegend mit Calcineurin-Inhibitoren erhielten. In Gruppe B, die Therapiegruppe, wurden die Studienteilnehmer erfasst, welche mit Sirolimus (Rapamune®) behandelt wurden. Von insgesamt 166 HCV-positiven Teilnehmern wurden 88 in die Kontrollgruppe A und 78 in die mTOR-Inhibitor-Gruppe B randomisiert.

3.1.1 Patienten-Charakterisierung

Die allgemeinen Merkmale der HCV-positiven Patienten, die an der SiLVER-Studie teilgenommen haben, sind in Tabelle 1 beschrieben. Sie bezieht sich auf die Anzahl der Teilnehmer in den Gruppen A und B bezüglich: Alter, Geschlecht, Ethnizität und Wartelistenzeit. Diese allgemeinen Parameter werden in den nächsten Abschnitten vergleichend zwischen den beiden Gruppen analysiert, da Unterschiede hierin einen Einfluss auf die dann folgende Outcome-Analyse haben können.

Tabelle 1: Beschreibung der Studienteilnehmer

Patienten-Charakterisierung	Gruppe A		Gruppe B		p-Wert
Patientenanzahl	88		78		
Alter (Jahre)					
MW (SD)	56,9	(7,2)	58	(6,1)	0,27 ^a
Geschlecht					
Männlich	72	(81,8%)	72	(92,3%)	0,07 ^b
Weiblich	16	(18,2%)	6	(7,7%)	
Ethnizität					
Kaukasisch	83	(94,3%)	76	(97,4%)	0,77 ^c
Afrikanisch	2	(2,3%)	1	(1,3%)	
Asiatisch	1	(1,2%)	1	(1,3%)	
Arabisch	1	(1,2%)			
Zeit auf der Warteliste (Jahre)					
Median	0,42		0,29		0,12 ^d
(Q1-Q3)	0,18-0,84		0,14-0,69		

Statistik: ^a ungepaarter T-Test ^b Fischer Exakt Test ^c Chi-Quadrat Test ^d Mann-Whitney Test

Der Altersdurchschnitt lag in Gruppe A bei 56,9 Jahren mit einer Standardabweichung von 7,2 Jahren. In Gruppe B lag der Altersdurchschnitt bei 58 Jahren mit einer Standardabweichung von 6,1 Jahren. Bei einem p-Wert von 0,27 gab es keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Altersverteilung zwischen den beiden Gruppen. Sowohl in Gruppe A, als auch in Gruppe B gab es mehr männliche Teilnehmer. In Gruppe A lag der männliche Anteil mit 72 Teilnehmern bei 81,8%, der weibliche Anteil mit 16 Teilnehmerinnen bei 18,2%. Ähnlich zeigte sich die Verteilung in Gruppe B. Der männliche Anteil mit ebenfalls 72 Teilnehmern lag hier bei 92,3%, der weibliche Anteil hingegen mit nur 6 Teilnehmerinnen bei 7,7%. Bei einem p-Wert von 0,07 zeigte sich hier kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Bezüglich der Ethnizität wird deutlich, dass sowohl in Gruppe A, mit 83 Teilnehmern und 94,3%, als auch in Gruppe B, mit 76 Teilnehmern und 97,4%, der mit Abstand größte Anteil kaukasischer Herkunft gewesen ist. In Gruppe A sind zwei Teilnehmer, entsprechend 2,7%, in Gruppe B ein Teilnehmer, entsprechend 1,3%, afrikanischer Herkunft gewesen. Asiatischer Herkunft ist in Gruppe A und B jeweils ein Teilnehmer gewesen, der entsprechende prozentuale Anteil lag in Gruppe A bei 1,2% und in Gruppe B bei 1,3%. In Gruppe A ist ein arabischer Teilnehmer gewesen, sein prozentualer Anteil lag ebenfalls bei 1,2%. Der p-Wert zur Herkunftsverteilung lag bei 0,77 und zeigte somit keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Ethnizität zwischen den Gruppen. Der letzte

Tabellenpunkt beschreibt die auf einer Transplantationswarteliste verbrachte Zeit im Median. Bei Gruppe A lag die Medianzeit bei 0,42 Jahren und der Interquartilsabstand bei 0,66 Jahren. In Gruppe B lag die Medianzeit bei 0,29 Jahren und der Interquartilsabstand bei 0,55 Jahren. Der p-Wert hierzu lag bei 0,12 und zeigte dementsprechend keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen A und B.

Da die Endpunkte der Studie eng mit der jeweiligen Grunderkrankung verbunden sind, werden in den nächsten Abschnitten verschiedene tumorspezifische Parameter vergleichend zwischen den beiden Gruppen analysiert. Unterschiede hierin können einen Einfluss auf die dann folgende Analyse zum Überleben der Patienten haben. Detaillierte Informationen zur Charakterisierung der HCCs der Patienten aus Gruppe A und B umfasst die Tabelle 2.

Tabelle 2: Detaillierte Charakterisierung der HCCs

HCC-Charakterisierung	Gruppe A (n=88)		Gruppe B (n=78)		p-Wert
Innerhalb der Milan-Kriterien					
Radiologie-Befund bei Listung	62	(70,5%)	57	(73,1%)	0,86 ^a
Pathologie-Befund nach LTx	61	(69,3%)	51	(65,4%)	0,61 ^a
Maximale Tumorgroße					
>5 cm	5	(5,7%)	5	(6,4%)	0,69 ^b
3-5 cm	32	(36,4%)	33	(42,3%)	
<3 cm	51	(58,0%)	40	(51,3%)	
Tumoranzahl					
1 - 2	63	(71,6%)	61	(78,2%)	0,37 ^a
≥ 3	25	(28,4%)	17	(21,8%)	

Statistik: ^a Fischer Exakt Test ^b Chi-Quadrat Test

Sie bezieht die Milan-Kriterien, die Tumorgroße sowie die Tumoranzahl ein. Ein Erfüllen der Milan-Kriterien wird unterteilt in den radiologischen Befund bei Listung und den pathologischen Befund nach LTx. Aufgrund des radiologischen Befundes zum Zeitpunkt bei Listung lagen in Gruppe A 62 Teilnehmer (70,5%) und in Gruppe B 57 Teilnehmer (73,1%) innerhalb der Milan-Kriterien. Der p-Wert lag bei 0,86 und zeigte somit keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen A und B. Der pathologische Befund nach LTx schloss in Gruppe A

61 Teilnehmer (69,3%) und in Gruppe B 51 Teilnehmer (65,4%) in die Milan-Kriterien ein. Auch der hierzu gehörige p-Wert von 0,61 zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen A und B. In Bezug auf die maximale TumorgroÙe lagen in Gruppe A fünf Teilnehmer (5,7%) in einem Bereich > 5cm, 32 Teilnehmer (36,4%) in einem Bereich von 3-5cm und 51 Teilnehmer (58,0%) in einem Bereich < 3cm. In Gruppe B lässt sich mit fünf Teilnehmern (6,4%) in einem Bereich > 5cm, 33 Teilnehmern (42,3%) in einem Bereich von 3-5cm und 40 Teilnehmern (51,3%) in einem Bereich < 3cm eine ähnliche Verteilung feststellen. Der p-Wert von 0,69 zeigte keinen signifikanten Unterschied bei der Verteilung zwischen Gruppe A und Gruppe B. Bezüglich der Anzahl an Tumoren wiesen Gruppe A und B ebenfalls eine ausgeglichene Verteilung auf. Gruppe A umfasste 63 Teilnehmer (71,6%) mit einer Anzahl von ein bis zwei Tumoren. Gruppe B 61 Teilnehmer (78,2%) mit einer Anzahl von ein bis zwei Tumoren. Eine Tumoranzahl ≥ 3 wiesen in Gruppe A 25 Teilnehmer (28,4%) und in Gruppe B 17 Teilnehmer (21,8%) auf. Der entsprechende p-Wert lag bei 0,37.

Einen genaueren Überblick über die HCV-Infektion der teilnehmenden Patienten gibt Tabelle 3. Sie enthält Informationen über den Genotyp und die Art der Vorbehandlung.

Tabelle 3: Charakterisierung der HCV-Infektion

HCV-Charakterisierung	Gruppe A (n=88)		Gruppe B (n=78)		p-Wert
Genotyp					
1	46	(52,3%)	46	(59,0%)	0,8918 ^a
2	1	(1,1%)	2	(2,6%)	
3	19	(21,6%)	16	(20,5%)	
4	3	(3,4%)	2	(2,6%)	
5a	1	(1,1%)	0	(0,0%)	
nicht getestet	13	(14,8%)	12	(15,4%)	
Vorbehandlung					
IFN	6	(6,8%)	8	(10,3%)	0,7252 ^a
pegIFN+RBV	38	(43,2%)	33	(42,3%)	
keine	44	(50,0%)	37	(47,4%)	

Statistik: ^a Chi-Quadrat Test

In Gruppe A fielen 46 Teilnehmer 52,3% unter Genotyp 1, ein Teilnehmer (1,1%) unter Genotyp 2, 19 Teilnehmer (21,6%) unter Genotyp 3, drei Teilnehmer (3,4%) unter Genotyp 4 und ein Teilnehmer (1,1%) unter Genotyp 5a. Weitere 13 Teilnehmer (14,8%) wurden nicht getestet. In Gruppe B lag bei 46 Teilnehmern (59,0%) Genotyp 1, bei zwei Teilnehmern (2,6%) Genotyp 2, bei 16 Teilnehmern (20,5%) Genotyp 3, bei zwei Teilnehmern (2,6%) Genotyp 4 und bei keinem Teilnehmer (0%) Genotyp 5a vor. Auch in dieser Gruppe wurden 12 Teilnehmer (15,4%) nicht getestet. Der p-Wert zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen Gruppe A und B, er lag bei 0,89. Eine Vorbehandlung der HCV-Infektion wurde bei sechs Teilnehmern (6,8%) in Gruppe A und bei acht Teilnehmern (10,3%) in Gruppe B mit Interferon (IFN) durchgeführt. Bei 38 Teilnehmern (43,2%) aus Gruppe A und bei 33 Teilnehmern (42,3%) aus Gruppe B wurde eine Kombinationstherapie aus pegyliertem Interferon und Ribavirin (pegIFN+RBV) durchgeführt. Keine HCV-spezifische Vorbehandlung fand in Gruppe A bei 44 Teilnehmern (50,0%) und in Gruppe B bei 37 Teilnehmern (47,4%) statt. Der p-Wert mit 0,73 zeigte, dass es keinen signifikanten Unterschied in der Vorbehandlung zwischen Gruppe A und B gab.

Den Verlauf der fünfjährigen Nachbeobachtungszeit mit Fokus auf einer akuten Abstoßung, einer CMV-Infektion, einer erhaltenen HCV-Therapie und eines HCC-Rezidivs, umfasst Tabelle 4. Unterschiede hierin könnten ebenfalls einen Einfluss auf die dann folgende Analyse zum Überleben der Patienten haben.

Tabelle 4: Ereignisse während der Nachbeobachtungszeit

Nachbeobachtung	Gruppe A (n=88)		Gruppe B (n=78)		p-Wert
Akute Abstoßung	27	(30,7%)	23	(29,5%)	>0,99 ^a
CMV-Infektion	9	(10,2%)	3	(3,8%)	0,14 ^a
HCV-Therapie erhalten	40	(45,5%)	36	(46,2%)	>0,99 ^a
SVR	17	(42,5%)	18	(50,0%)	0,63 ^a
Unbekannt	3	(7,5%)	3	(8,3%)	
HCC-Rezidiv	18	(20,5%)	12	(15,4%)	0,43 ^a

Statistik: ^a Fischer Exakt Test

In Gruppe A litten 27 Teilnehmer (30,7%) unter einer akuten Abstoßungsreaktion. In Gruppe B waren 23 Teilnehmern, somit 29,5% betroffen. Der p-Wert mit > 0,99 zeigte, dass es keinen signifikanten Unterschied diesbezüglich zwischen Gruppe A und B gab. Von einer CMV-Infektion waren in Gruppe A neun Teilnehmer (10,2%) und in Gruppe B drei Teilnehmer (3,8%) betroffen. Der p-Wert von 0,14 zeigte keinen signifikanten Unterschied. In Gruppe A erhielten 40 Teilnehmer (45,5%) eine HCV-Therapie, 17 Teilnehmer (42,5%) zeigten eine „sustained virological response“ (SVR), bei drei Teilnehmern (7,5%) ist nicht bekannt, ob eine HCV-Therapie stattgefunden hat. In Gruppe B erhielten 36 Teilnehmer (46,2%) eine HCV-Therapie, 18 Teilnehmer (50,0%) zeigten eine SVR und bei ebenfalls drei Teilnehmern (8,3%) ist es nicht bekannt. Die p-Werte zeigten, mit > 0,99 zum Erhalt einer HCV-Therapie sowie mit 0,63 zur SVR, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen Gruppe A und B gab. Auch der p-Wert bezüglich eines HCC-Rezidivs zeigte mit einem Wert von 0,43 keinen signifikanten Unterschied zwischen Gruppe A und B. In Gruppe A trat bei 18 Teilnehmern (20,5%), in Gruppe B bei 12 Teilnehmern (15,4%) ein Rezidiv auf.

3.1.2 Wirkung einer mTOR-Inhibitor-basierten Immunsuppression auf die HCV-RNA

Die Wirkung der mTOR-Inhibitor-basierten Immunsuppression auf die HCV-RNA-Replikationen im Vergleich zur Gruppe A zeigt Abbildung 1. Es werden die Werte prä-LTx, zur Zeit der Randomisierung, zwischen drei bis sechs Monaten, neun bis zwölf Monaten, nach zwei, drei, vier und fünf Jahren veranschaulicht.

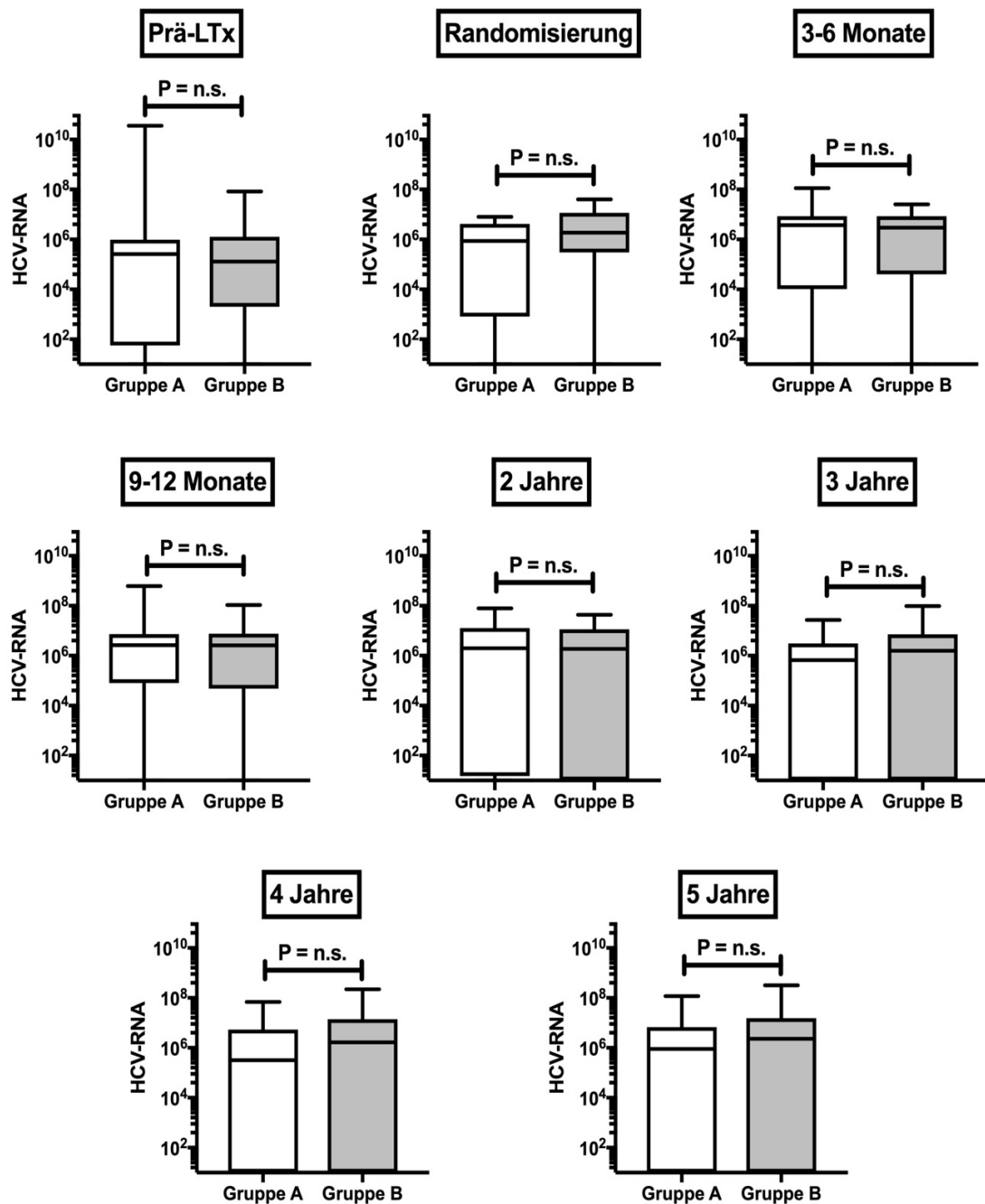


Abbildung 1: Querschnittsvergleich der HCV-RNA-Replikationsrate prä- und post-LTx zwischen Gruppe A und B. Statistik: Kastengrafik mit Median, IQR und Min/Max; Mann-Whitney Test; nicht signifikant (n.s.)

Bei der Betrachtung der HCV-RNA-Replikationsrate prä-LTx ergab sich bei Gruppe A ein Medianwert von $2,6 \times 10^5$ (IQR $5,7 \times 10^1 - 9,8 \times 10^5$) HCV-RNA-Replikationen. In Gruppe B lag dieser bei $1,3 \times 10^5$ (IQR $2,0 \times 10^3 - 1,3 \times 10^6$). Es lag kein signifikanter Unterschied bezüglich der HCV-RNA-Replikationen prä-LTx zwischen Gruppe A und B vor. Zur Zeit der Randomisierung lagen die HCV-

RNA-Replikationen im Median in Gruppe A bei $8,6 \times 10^5$ (IQR $8,1 \times 10^2 - 4,1 \times 10^6$) und in Gruppe B bei $1,9 \times 10^6$ (IQR $3,0 \times 10^5 - 1,2 \times 10^7$), es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen Gruppe A und B. Nach drei bis sechs Monaten lag der Medianwert in Gruppe A bei $3,7 \times 10^6$ (IQR $1,0 \times 10^4 - 8,4 \times 10^6$) und in Gruppe B bei $2,9 \times 10^6$ (IQR $4,1 \times 10^4 - 8,6 \times 10^6$), zwischen Gruppe A und B lag kein signifikanter Unterschied vor. Auch neun bis zwölf Monate nach LTx lag kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen vor. In Gruppe A lag zu dieser Zeit der Medianwert der HCV-RNA-Replikationen bei $2,7 \times 10^6$ (IQR $7,9 \times 10^4 - 7,4 \times 10^6$) und in Gruppe B bei $2,6 \times 10^6$ (IQR $4,8 \times 10^4 - 7,6 \times 10^6$). Nach zwei Jahren lag in Gruppe A der Medianwert der HCV-RNA-Replikationen bei $1,9 \times 10^6$ (IQR $1,5 \times 10^1 - 1,3 \times 10^7$) in Gruppe B bei $1,9 \times 10^6$ (IQR $7,5 - 1,1 \times 10^7$). Zwischen Gruppe A und B lag kein signifikanter Unterschied vor. Nach drei Jahren lag der Medianwert in Gruppe A $6,7 \times 10^5$ (IQR $4,5 - 3,1 \times 10^6$) und in Gruppe B bei $1,6 \times 10^6$ (IQR $0,0 - 7,1 \times 10^6$). Zwischen Gruppe A und B war kein signifikanter Unterschied erkennbar. Nach vier Jahren lag der Medianwert in Gruppe A bei $3,2 \times 10^5$ (IQR $0,0 - 5,4 \times 10^6$), in Gruppe B bei $1,7 \times 10^6$ (IQR $3,5 - 1,4 \times 10^7$). Zwischen Gruppe A und B gab es keinen signifikanten Unterschied. Nach fünf Jahren lag in Gruppe A der Medianwert der HCV-RNA-Replikationen bei $8,9 \times 10^5$ (IQR $0,0 - 6,8 \times 10^6$) und in Gruppe B bei $2,3 \times 10^6$ (IQR $0,0 - 1,5 \times 10^7$). Es lag kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen vor.

Den longitudinalen Verlauf der HCV-RNA post-LTx der Gruppen A und B zeigt Abbildung 2. Es werden die Medianwerte prä-LTx, zur Zeit der Randomisierung, nach drei bis sechs Monaten, neun bis zwölf Monaten, nach zwei, drei, vier und fünf Jahren longitudinal dargestellt.

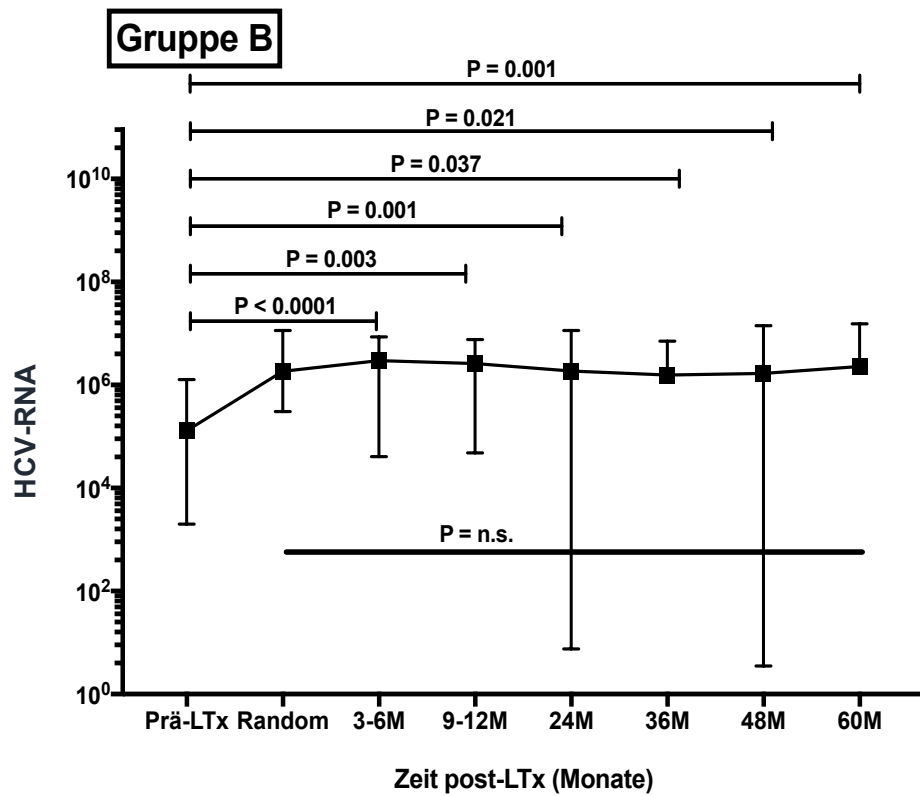
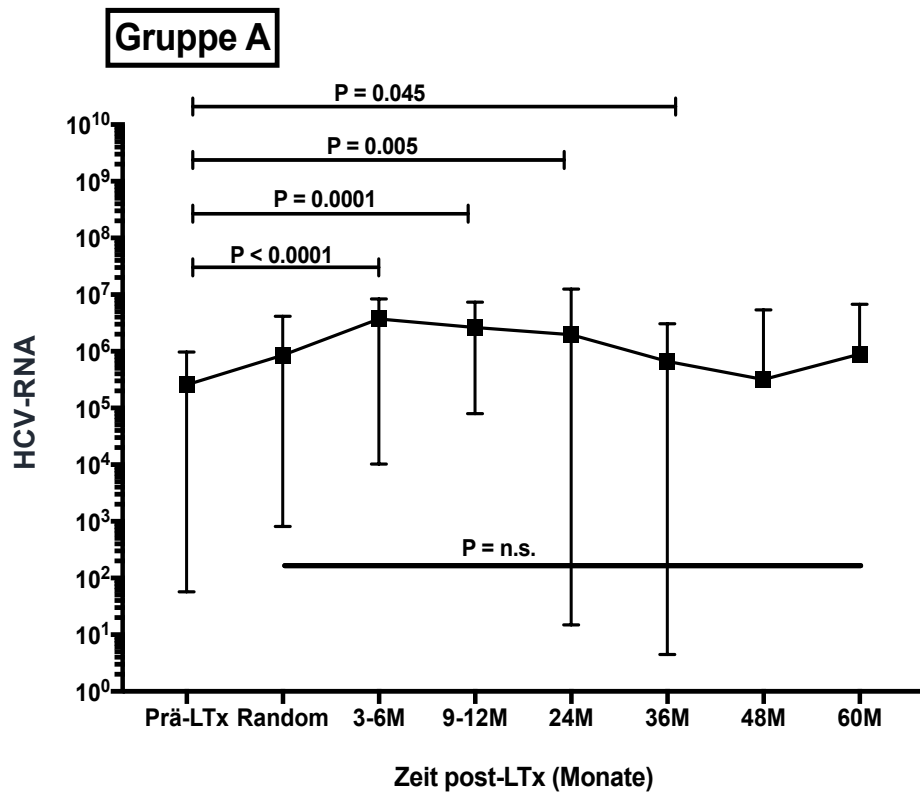


Abbildung 2: Longitudinaler Verlauf der HCV-RNA-Replikationsrate post-LTx (Gruppe A und B). Statistik: Median +/- IQR; Wilcoxon matched-pairs signed rank test.

In Gruppe A gab es gegenüber dem Wert prä-LTx nach drei bis sechs Monaten ($p < 0,0001$), nach neun bis zwölf Monaten ($p = 0,0001$), nach zwei Jahren ($p = 0,005$) und nach drei Jahren ($p = 0,045$) einen signifikanten Unterschied in der HCV-RNA-Replikationsrate. Betrachtet man den longitudinalen Verlauf vom Zeitpunkt der Randomisierung bis zum Studienende (60 Monate später) ließ sich kein signifikanter Unterschied der HCV-RNA-Replikationsrate feststellen. In Gruppe B ließ sich im Vergleich zum Zeitpunkt prä-LTx nach drei bis sechs Monaten ($p < 0,0001$), nach neun bis zwölf Monaten ($p = 0,003$), nach zwei Jahren ($p = 0,001$), nach drei Jahren ($p = 0,037$), nach vier Jahren ($p = 0,021$) und nach fünf Jahren ($p = 0,001$) ein signifikanter Unterschied in der HCV-RNA-Replikationsrate feststellen. Auch in Gruppe B ließ sich feststellen, dass es vom Zeitpunkt der Randomisierung bis zum Studienende (60 Monate später) im longitudinalen Verlauf keinen signifikanten Unterschied der HCV-RNA-Replikationsrate gibt. Eine antivirale Wirkung von Sirolimus (Rapamune®) auf die HCV-RNA-Replikationsrate lässt sich nicht erkennen.

Das Ausmaß der Leberinflammation gemessen als Höhe der Lebertransaminasen (ALT) der Gruppen A und B zum Zeitpunkt der Randomisierung, nach drei bis sechs und neun bis zwölf Monaten, sowie nach zwei, drei, vier und fünf Jahren nach LTx veranschaulicht Abbildung 3.

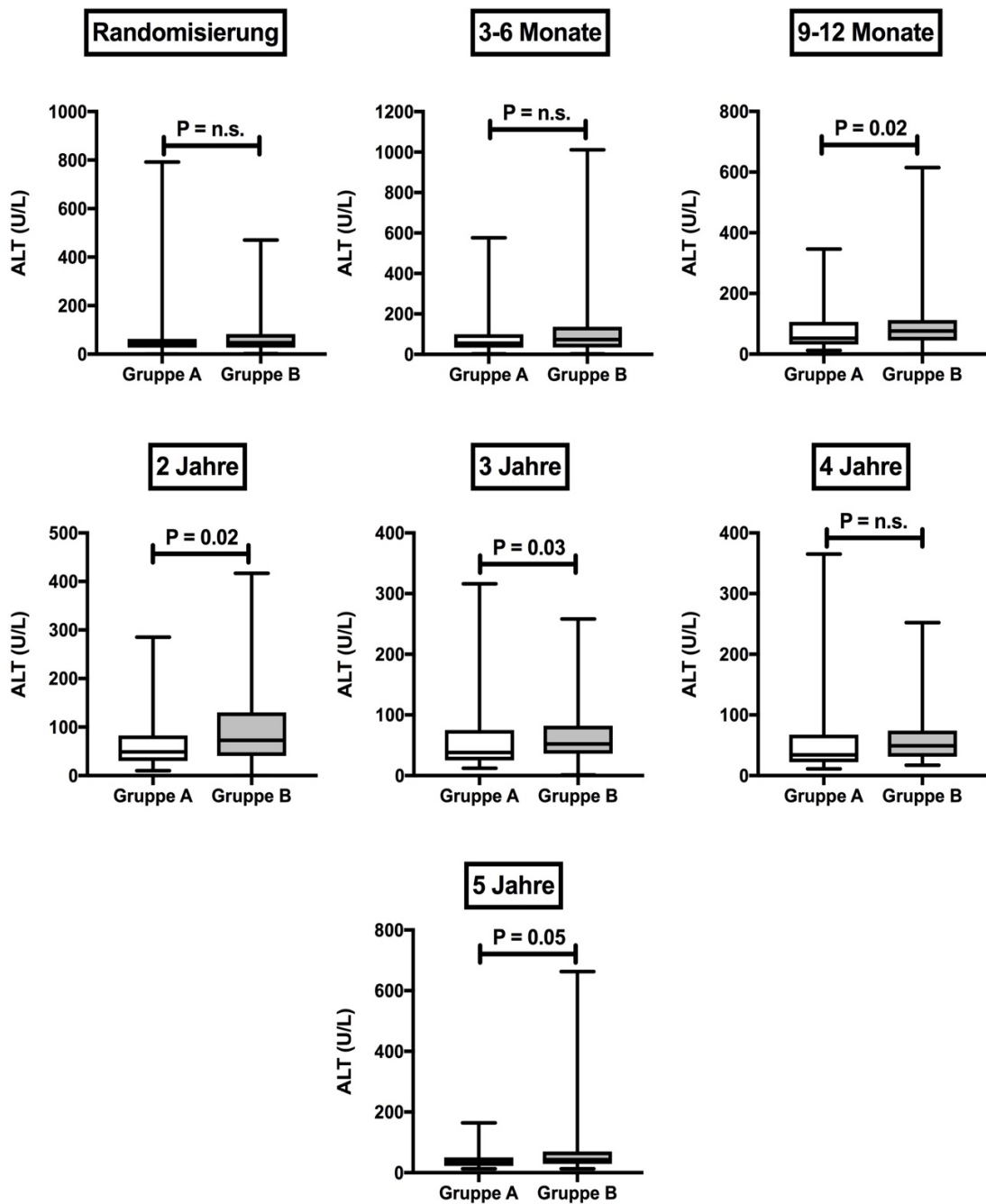


Abbildung 3: Querschnittsvergleich der Lebertransaminasen (ALT) prä- und post-LTx zwischen Gruppe A und B. Statistik: Kastengrafik mit Median, IQR und Min/Max; Mann-Whitney Test

Zum Zeitpunkt der Randomisierung lag bezüglich des Medianwertes der ALT zwischen Gruppe A und B kein signifikanter Unterschied vor. Der Medianwert lag in Gruppe A bei 43 (U/l) (IQR 27 – 63) und in Gruppe B bei 47 (IQR 27 – 83). Nach drei bis sechs Monaten lag der Medianwert in Gruppe A bei 55,5 (IQR 33 – 99) und in Gruppe B bei 73 (IQR 35 – 136). Es lag ebenfalls kein signifikanter

Unterschied zwischen Gruppe A und B vor. Nach neun bis zwölf Monaten lag der Medianwert der ALT in Gruppe A bei 52 (IQR 32 – 106) und in Gruppe B bei 76 (IQR 45 – 112). Der dazugehörige p-Wert von 0,02 zeigt, dass es in diesem Zeitraum einen signifikanten Unterschied zwischen Gruppe A und B gab. Zwei Jahre nach LTx lag der Medianwert in Gruppe A bei 49 (IQR 30 – 83) und in Gruppe B bei 72,5 (IQR 41 – 130). Der p-Wert war ebenfalls 0,02 und zeigt, dass es auch zu diesem Zeitpunkt einen signifikanten Unterschied zwischen Gruppe A und B gab. Nach drei Jahren lag der Medianwert in Gruppe A bei 38 (IQR 25 – 75) und in Gruppe B bei 52 (IQR 36 – 82). Der bei 0,03 liegende p-Wert zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen Gruppe A und B. Nach vier Jahren lag der Medianwert in Gruppe A bei 34 (IQR 22 – 68) und in Gruppe B bei 49 (IQR 31 – 74). Der p-Wert hierzu zeigte keinen signifikanten Unterschied mehr zwischen Gruppe A und B. Fünf Jahre nach LTx lag der p-Wert bei 0,05 und zeigt somit wieder einen signifikanten Unterschied zwischen Gruppe A und B. Der Medianwert der ALT lag zu dieser Zeit in Gruppe A bei 32 (IQR 22 – 50) und in Gruppe B bei 43 (IQR 29 – 70).

3.1.3 Analyse des primären Endpunktes (HCC-freies Überleben) und der sekundären Endpunkte (Gesamt-Überleben und HCC-Rezidiv)

Die Kaplan-Meyer-Überlebenskurven in Abbildung 4 verbildlichen die Entwicklung der Gruppen A und B in Bezug auf ein HCC-freies Überleben, die Ausbildung eines HCC-Rezidivs und das Gesamt-Überleben.

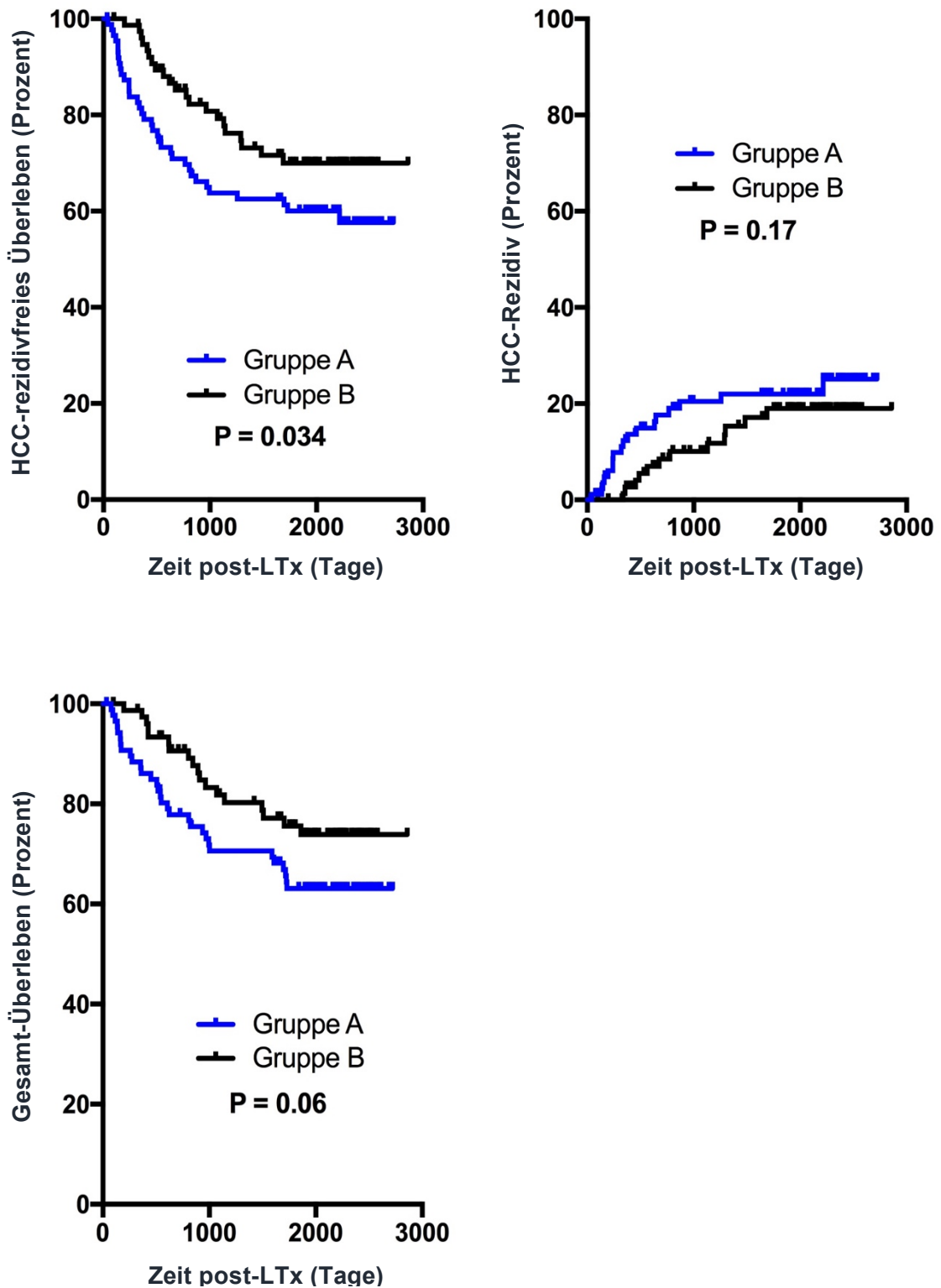


Abbildung 4: Kaplan-Meyer-Überlebenskurven (Gruppe A und B). Statistik: Gehan-Breslow-Wilcoxon test

Zum primären Endpunkt, das HCC-freie Überleben, gab es einen signifikanten Unterschied zwischen Gruppe A und B, der entsprechende p-Wert lag bei 0,034.

Wohingegen die Analyse des sekundären Endpunktes keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen A und B erkennen ließ. Der p-Wert zur HCC-Rezidiv-Ausbildung lag bei 0,17. Der p-Wert zum Gesamtüberleben lag bei 0,06.

3.2 Post-hoc-Analyse der Gruppen A, B1 und B2

Die vorangegangenen Werte der post-hoc-Analyse zeigten in Bezug auf die Replikationsrate der HCV-RNA keinen signifikanten Unterschied zwischen Gruppe A und B. Aufgrund dieser Beobachtung wird im folgenden Abschnitt eine weitere Unterteilung in die Gruppen A, B1 und B2 vorgenommen. Die im vorangegangenen Abschnitt unter B geführte Gruppe wird weiter aufgeteilt in B1 und B2. Patienten der Gruppe B1 haben < 50% der Therapiedauer Rapamune® ohne Calcineurin-Inhibitoren erhalten. Sie erhielten dementsprechend eher eine Kombinationstherapie. Wohingegen Patienten der Gruppe B2 \geq 50% der Therapiedauer mit Rapamune® ohne Calcineurin-Inhibitoren behandelt wurden und somit eher eine Monotherapie erhielten. Die neue Gruppeneinteilung ermöglichte herauszuarbeiten welchen, beziehungsweise ob die Dosierung von Rapamune®, Einfluss auf die Replikationsrate der HCV-RNA, die HCC-Rezidivrate oder die ALT-Werte der HCV-positiven Patienten post-LTx ausübt.

3.2.1 Patienten-Charakterisierung der post-hoc-Gruppen

Einen detaillierten Überblick über die Teilnehmerzahl, den Altersmedian, die Geschlechter- und Ethnizität, sowie die Zeit vor der LTx seit Listung gibt Tabelle 5.

Tabelle 5: Beschreibung der Studienteilnehmer

Patienten-Charakterisierung	Gruppe A (ohne Rapa)	Gruppe B1 (<50% Rapa ohne CNI)	Gruppe B2 (≥50% Rapa ohne CNI)	p-Wert
Patientenanzahl	83	44	34	
Alter (Jahre)				
Median	55,1	57	58,4	0,21 ^a
(Q1-Q3)	51,8-63,7	52,3-61,8	54,1-63,6	
Geschlecht				
Männlich	69 (83,1%)	41 (93,2%)	31 (91,2%)	0,20 ^b
Weiblich	14 (16,9%)	3 (6,8%)	3 (8,2%)	
Rasse				
Kaukasisch	80 (96,4%)	43 (97,7%)	33 (97,1%)	0,80 ^b
Afrikanisch	1 (1,2%)		1 (2,9%)	
Asiatisch	1 (1,2%)	1 (2,3%)		
Arabisch	1 (1,2%)			
Zeit auf der Warteliste (Jahre)				
Median	0,46	0,24	0,3	0,21 ^c
(Q1-Q3)	0,17-0,92	0,14-0,64	0,07-1,01	

Statistik: ^a Anova ^b Chi-Quadrat Test ^c Kruskal Wallis Test

In Gruppe A sind 83, in Gruppe B1 44 und in Gruppe B2 34 Teilnehmer. Fünf Teilnehmer aus Gruppe A wurden in dieser post-hoc-Analyse nicht berücksichtigt, da sie ebenfalls Rapamune® erhalten hatten. Der Altersmedian lag in Gruppe A bei 55,1 Jahren, der Interquartilsabstand bei 11,9 Jahren; bei Gruppe B1 lag der Altersmedian bei 57 Jahren, der Interquartilsabstand bei 9,5 Jahren; in Gruppe B2 lag der Altersmedian bei 58,4 Jahren, der Interquartilsabstand bei ebenfalls 9,5 Jahren. Der p-Wert von 0,21 zeigte keinen signifikanten Unterschied. In Gruppe A waren 69 Teilnehmer männlich (83,1%), 14 Teilnehmerinnen weiblich (16,9%); in Gruppe B1 waren 41 Teilnehmer männlich (93,2%), drei Teilnehmerinnen weiblich (6,8%); in Gruppe B2 waren 31 Teilnehmer männlich (91,2%), drei Teilnehmerinnen weiblich (8,2%). Der p-Wert von 0,20 zeigte, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen gab. Gruppe A mit 80 Teilnehmern (96,4%), B1 mit 43 Teilnehmern (97,7%) und B2 mit 33 Teilnehmern (97,1%) wiesen den mit Abstand größten Anteil der Teilnehmer mit kaukasischer Herkunft auf. Gruppe A umfasste jeweils einen (1,2%) Teilnehmer mit afrikanischer, asiatischer und arabischer Herkunft. In Gruppe B1 befand sich ein asiatischer (2,3%) und in Gruppe B2 ein afrikanischer (2,9%) Teilnehmer. Der p-Wert von 0,80 zeigt, dass es keinen signifikanten Unterschied in Bezug auf die Herkunftsverteilung unter den Gruppen gab. Der Median der Wartezeit lag in Gruppe A bei 0,46 Jahren, der Interquartilsabstand

bei 0,75 Jahren; in Gruppe B1 bei 0,24 Jahren der Interquartilsabstand bei 0,5 Jahren; in Gruppe B2 bei 0,3 Jahren der Interquartilsabstand bei 0,94 Jahren. Der p-Wert von 0,21 zeigt, dass es keinen signifikanten Unterschied der einzelnen Gruppen auf der Warteliste gab.

Detaillierte Informationen zur HCC-Charakterisierung der Patienten aus Gruppe A und B1 und B2 gibt Tabelle 6. Sie bezieht die Milan-Kriterien, die Tumorgröße und Anzahl ein.

Tabelle 6: Detaillierte Charakterisierung der HCCs

HCC-Charakterisierung	Gruppe A (ohne Rapa)		Gruppe B (<50% Rapa ohne CNI)		Gruppe B (≥50% Rapa ohne CNI)		p-Wert
Innerhalb der Milan-Kriterien							
Radiologie-Befund bei Listung	61	(73,5%)	31	(70,5%)	23	(76,5%)	0,84 ^a
Pathologie-Befund nach LTx	58	(70,7%)	32	(72,7%)	19	(55,9%)	0,22 ^a
Maximale Tumorgröße							
>5 cm	4	(4,8%)	2	(4,5%)	3	(8,8%)	0,63 ^a
3-5 cm	28	(33,7%)	18	(40,9%)	15	(44,1%)	
<3 cm	51	(61,4%)	24	(54,5%)	16	(47,1%)	
Tumoranzahl							
1 - 2	62	(74,7%)	32	(72,7%)	29	(85,3%)	0,38 ^a
≥3	21	(25,3%)	12	(27,3%)	5	(14,7%)	

Statistik: ^a Chi-Quadrat Test

In Gruppe A lagen zum Zeitpunkt der Listung 61 Teilnehmer (73,5%), in Gruppe B1 31 Teilnehmer (70,5%) und in Gruppe B2 23 Teilnehmer (76,5%) innerhalb der Milan-Kriterien. Der p-Wert von 0,84 zeigte, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen gab. Nach LTx lagen in Gruppe A 58 Teilnehmer (70,7%), in Gruppe B1 32 Teilnehmer (72,7%) und in Gruppe B2 19 Teilnehmer (55,9%) innerhalb der Milan-Kriterien. Der p-Wert von 0,22 zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Die Tumorgröße war unter den drei Gruppen gleichmäßig verteilt. Dies zeigte auch der dazugehörige p-Wert von 0,63. In Gruppe A, B1 und B2 sind jeweils vier Teilnehmer (4,8%), zwei Teilnehmer (4,5%) und drei Teilnehmer (8,8%) mit einer Tumorgröße > 5cm; 28 Teilnehmer (33,7%), 18 Teilnehmer (40,9%) und 15 Teilnehmer (44,1%) mit einer Tumorgröße zwischen 3-5cm; 51 Teilnehmer (61,4%), 24 Teilnehmer (54,5%) und 16 Teilnehmer (47,1%) mit einer Tumorgröße von

< 3cm. Eine Anzahl von 1-2 Tumoren betraf in Gruppe A 62 Teilnehmer (74,7%), in B1 32 Teilnehmer (72,7%) und in B2 29 Teilnehmer (85,3%). Eine Anzahl von ≥ 3 Tumoren betraf in Gruppe A 21 Teilnehmer (25,3%), in B1 zwölf Teilnehmer (27,3%) und in B2 fünf Teilnehmer (14,7%). Der p-Wert von 0,38 zeigte, dass es keinen signifikanten Unterschied bei der Verteilung unter den Gruppen gab.

Einen genaueren Überblick über die HCV-Infektion der teilnehmenden Patienten und ihre Verteilung in den Gruppen A, B1 und B2 gibt Tabelle 7. Sie enthält Informationen über den Genotyp und die Art der Vorbehandlung.

Tabelle 7: Charakterisierung der HCV-Infektion

HCV-Charakterisierung	Gruppe A (ohne Rapa)		Gruppe B1 (<50% Rapa ohne CNI)		Gruppe B2 (\geq 50% Rapa ohne CNI)		p-Wert
Genotyp							
1	46	(55,4%)	25	(56,8%)	21	(61,8%)	0,66 ^a
2	1	(1,2%)	0	(0%)	2	(6,5%)	
3	19	(22,9%)	11	(23,4%)	5	(16,1%)	
4	3	(3,6%)	2	(4,3%)	0	(0%)	
5a	1	(1,2%)	0	(0%)	0	(0%)	
nicht getestet	13	(15,7%)	6	(12,8%)	6	(19,4%)	
Vorbehandlung							
IFN	6	(7,2%)	3	(6,8%)	5	(14,7%)	0,72 ^a
pegIFN+RBV	38	(45,8%)	19	(43,2%)	14	(41,2%)	
keine	39	(47%)	22	(50%)	15	(44,1%)	

Statistik: ^a Chi-Quadrat Test

Der p-Wert von 0,6552 zur Verteilung der Genotypen zeigte, dass es keinen signifikanten Unterschied bezüglich dieser Verteilung unter den Gruppen gab. In Gruppe A fielen 46 Teilnehmer (55,4%) unter Genotyp 1, ein Teilnehmer (1,2%) unter Genotyp 2, 19 Teilnehmer (22,9%) unter Genotyp 3, drei Teilnehmer (3,6%) unter Genotyp 4, ein Teilnehmer (1,2%) unter Genotyp 5a, weitere 13 Teilnehmer (15,7%) wurden nicht getestet. In Gruppe B1 fielen 25 Teilnehmer (56,8%) unter Genotyp 1, kein Teilnehmer (0%) unter Genotyp 2, elf Teilnehmer (23,4%) unter Genotyp 3, zwei Teilnehmer (4,3%) unter Genotyp 4, kein Teilnehmer (0%) unter Genotyp 5a, weitere 6 Teilnehmer (12,8%) wurden nicht getestet. In Gruppe B2 fielen 21 Teilnehmer (61,8%) unter Genotyp 1, zwei Teilnehmer (6,5%) unter Genotyp 2, fünf Teilnehmer (16,1%) unter Genotyp 3,

kein Teilnehmer (0%) unter Genotyp 4 und kein Teilnehmer (0%) unter Genotyp 5a. Weitere 6 Teilnehmer (19,4%) wurden nicht getestet. Der p-Wert von 0,7236, bezüglich der HCV-spezifischen Vorbehandlung zeigte, dass es hier keinen signifikanten Unterschied unter den Gruppen gab. Eine Vorbehandlung mit Interferon (IFN) erhielten in Gruppe A sechs Teilnehmer (7,2%), in Gruppe B1 drei (6,8%) und in Gruppe B2 fünf Teilnehmer (14,7%). Eine Kombinationstherapie aus pegyliertem Interferon und Ribavirin (pegIFN+RBV) fand in Gruppe A bei 38 Teilnehmern (45,8%), in Gruppe B1 bei 19 Teilnehmern (43,2%) und in Gruppe B2 bei 14 Teilnehmern (41,2%) statt. Keine Vorbehandlung fand in Gruppe A bei 39 Teilnehmern (47%), in Gruppe B1 bei 22 Teilnehmern (50%) und in Gruppe B2 bei 15 Teilnehmern (44,1%) statt.

Den Verlauf der fünfjährigen Nachbeobachtungszeit mit Hinblick auf eine akute Transplantatabstoßungsreaktion, einer CMV-Infektion, einer erhaltenen HCV-Therapie und eines HCC-Rezidivs umfasst Tabelle 8.

Tabelle 8: Ereignisse während der Nachbeobachtungszeit

Nachbeobachtung	Gruppe A (ohne Rapa)		Gruppe B1 (<50% Rapa ohne CNI)		Gruppe B2 (≥50% Rapa ohne CNI)		p-Wert
Akute Abstoßung	24	(28,9%)	12	(27,3%)	11	(32,4%)	0,88 ^a
CMV-Infektion	9	(10,8%)	1	(2,3%)	2	(5,9%)	0,20 ^a
HCV-Therapie erhalten	35	(42,2%)	20	(45,5%)	16	(47,1%)	0,87 ^a
SVR	15	(42,9%)	12	(60%)	6	(37,5%)	0,61 ^a
Unbekannt	3	(8,6%)	0	(0%)	3	(18,8%)	
HCC-Rezidiv	14	(16,9%)	5	(11,4%)	7	(20,6%)	0,53 ^a

Statistik: ^a Chi-Quadrat Test

Der auf die akute Abstoßungsreaktion bezogene p-Wert von 0,88 zeigte, dass es keinen signifikanten Unterschied in diesem Punkt unter den Gruppen gab. In Gruppe A litten 24 Teilnehmer (28,9%), in Gruppe B1 zwölf Teilnehmer (27,3%) und in Gruppe B2 elf Teilnehmer (32,4%) unter einer akuten Abstoßungsreaktion. Eine CMV-Infektion trat in Gruppe A bei neun Teilnehmern (10,8%), in Gruppe B1 bei einem Teilnehmer (2,3%) und in Gruppe B2 bei zwei Teilnehmern (5,9%) auf. Der p-Wert von 0,20 zeigte keinen signifikanten Unterschied in Bezug auf eine CMV-Infektion unter den drei Gruppen. Eine HCV-Therapie erhielten in Gruppe A 35 Teilnehmer (42,2%), in Gruppe B1 20 Teilnehmer (45,5%) und in Gruppe B2 elf Teilnehmer (32,4%). Der p-Wert von 0,87 zeigte unter den Gruppen keinen signifikanten Unterschied. Eine SVR konnte in Gruppe A bei 15 Teilnehmern (42,9%), in Gruppe B1 bei zwölf Teilnehmern (60%) und in Gruppe B2 bei sechs Teilnehmern (37,5%) beobachtet werden. Der p-Wert von 0,61 zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Gruppen. Ob eine HCV-Therapie stattfand ist in Gruppe A bei drei Teilnehmern (8,6%), in Gruppe B1 bei keinem Teilnehmer (0%) und in Gruppe B2 bei drei Teilnehmern (18,8%) nicht bekannt. In Bezug auf ein HCC-Rezidiv gab es ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen Gruppe A, B1 und B2. Dies wird auch durch den p-Wert von 0,53 deutlich. In Gruppe A trat bei 14

Teilnehmern (16,9%), in Gruppe B1 bei fünf Teilnehmern (11,4%) und in Gruppe B2 bei sieben Teilnehmern (20,6%) ein HCC-Rezidiv auf.

3.2.2 Wirkung einer mTOR-Inhibitor-basierten Immunsuppression auf die HCV-RNA in den post-hoc-Gruppen A, B1 und B2

Die Wirkung der mTOR-Inhibitor-basierten Immunsuppression der Gruppen B1 und B2 auf die HCV-RNA-Replikationen im Vergleich zur Testgruppe A wird in Abbildung 5 beschrieben. Es werden die Werte prä-LTx, zur Zeit der Randomisierung, zwischen drei bis sechs Monaten, neun bis zwölf Monaten, nach zwei, drei, vier und fünf Jahren veranschaulicht.

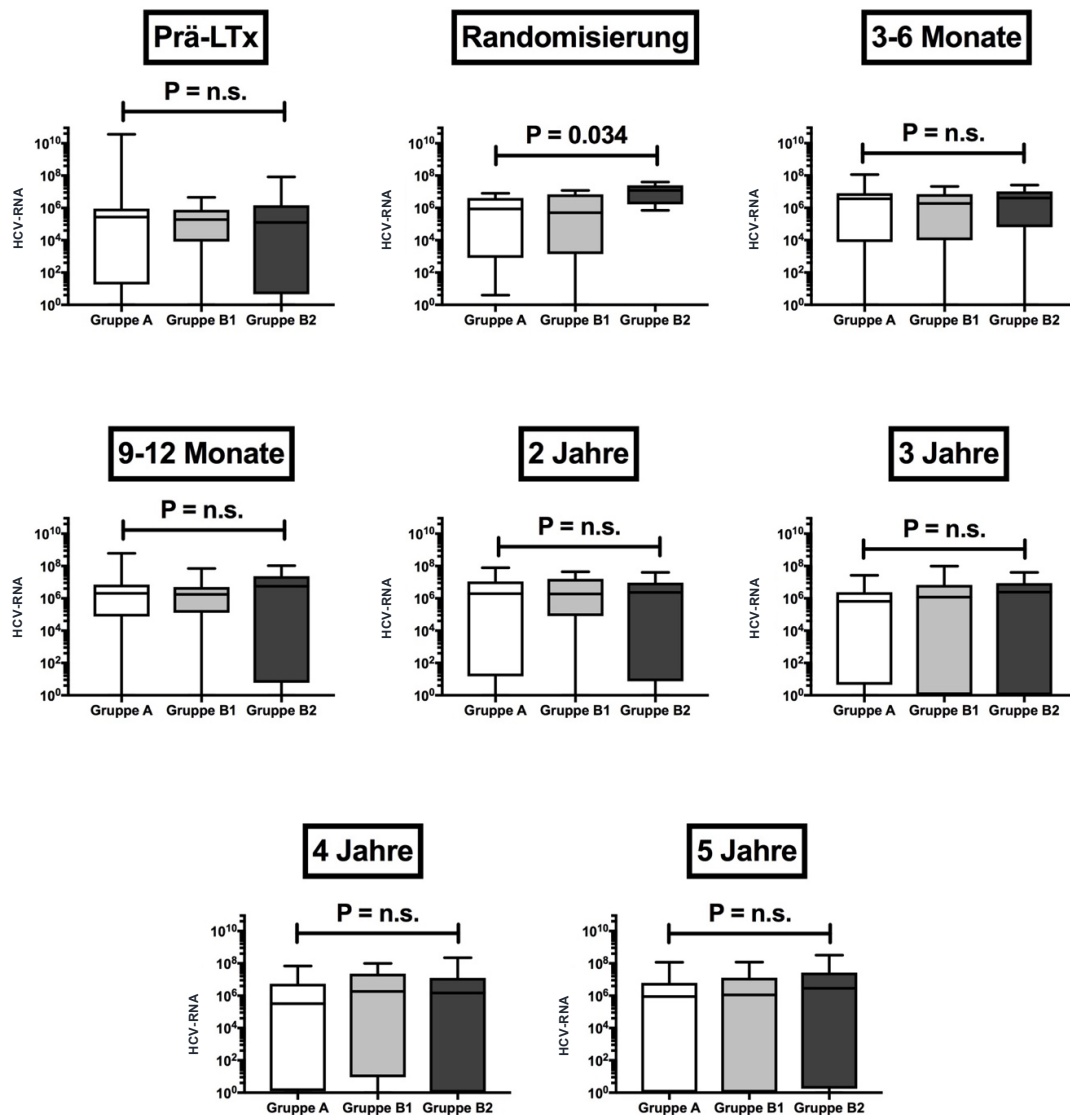


Abbildung 5: Querschnittsvergleich der HCV-RNA-Replikationsrate prä- und post-LTx zwischen Gruppe A, B1 und B2. Statistik: Kastengrafik mit Median, IQR und Min/Max; Mann-Whitney Test; nicht signifikant (n.s.)

Prä-LTx lag der Medianwert der HCV-RNA-Replikationen in Gruppe A bei $2,7 \times 10^5$ (IQR $1,8 \times 10^1 - 9,1 \times 10^5$), in Gruppe B1 bei $1,9 \times 10^5$ (IQR $8,2 \times 10^3 - 7,6 \times 10^5$) und B2 bei $1,3 \times 10^5$ (IQR $4,5 - 1,4 \times 10^6$). Der p-Wert zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Zur Zeit der Randomisierung hingegen zeigte der p-Wert von 0,034 einen signifikanten Unterschied zwischen den Testgruppen. In Gruppe A lag der Medianwert bei $8,6 \times 10^5$ (IQR $8,1 \times 10^2 - 4,1 \times 10^6$), in Gruppe B1 bei $5,1 \times 10^5$ (IQR $1,4 \times 10^3 - 6,9 \times 10^6$) und in B2 bei $1,2 \times 10^7$ (IQR $1,7 \times 10^6 - 2,5 \times 10^7$). Nach drei bis sechs Monaten zeigte sich jedoch erneut kein signifikanter Unterschied unter den Gruppen. In Gruppe A lag

der Medianwert bei $3,7 \times 10^6$ (IQR $7,7 \times 10^3 - 8,0 \times 10^6$), in Gruppe B1 bei $1,9 \times 10^6$ (IQR $1,0 \times 10^4 - 7,1 \times 10^6$) und in Gruppe B2 bei $4,1 \times 10^6$ (IQR $6,4 \times 10^4 - 1,1 \times 10^7$). Der Medianwert nach neun bis zwölf Monaten zeigte in Gruppe A $2,0 \times 10^6$ HCV-RNA-Replikationen (IQR $7,5 \times 10^4 - 7,1 \times 10^6$), in Gruppe B1 $1,8 \times 10^6$ (IQR $1,3 \times 10^5 - 5,0 \times 10^6$) und in Gruppe B2 $5,6 \times 10^6$ (IQR $6,0 - 2,3 \times 10^7$). Der p-Wert zeigte keinen signifikanten Unterschied. Nach zwei Jahren lag der Medianwert in Gruppe A bei $1,9 \times 10^6$ (IQR $1,5 \times 10^1 - 1,1 \times 10^7$), in Gruppe B1 bei $1,9 \times 10^6$ (IQR $7,9 \times 10^4 - 1,6 \times 10^7$) und in Gruppe B2 bei $2,3 \times 10^6$ (IQR $7,4 - 9,3 \times 10^6$). Der p-Wert zeigte keinen signifikanten Unterschied. Nach drei Jahren lag in Gruppe A der Medianwert bei $6,6 \times 10^5$ (IQR $4,5 - 2,5 \times 10^6$), in Gruppe B1 lag er bei $1,2 \times 10^6$ (IQR $0 - 6,7 \times 10^6$) und in Gruppe B2 bei $2,4 \times 10^6$ (IQR $0,0 - 8,8 \times 10^6$). Der p-Wert zeigt auch nach drei Jahren keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Nach vier Jahren lag der Medianwert in Gruppe A bei $3,2 \times 10^5$ (IQR $1,3 - 5,5 \times 10^6$), in Gruppe B1 bei $1,9 \times 10^6$ (IQR $9,0 - 2,3 \times 10^7$) und B2 bei $1,5 \times 10^6$ (IQR $0,0 - 1,3 \times 10^7$). Der p-Wert zeigte keinen signifikanten Unterschied. Fünf Jahre nach LTx lag der Medianwert in Gruppe A bei $8,9 \times 10^5$ (IQR $0,0 - 6,3 \times 10^6$), in Gruppe B1 bei $1,1 \times 10^6$ (IQR $0,0 - 1,3 \times 10^7$) und in Gruppe B2 bei $2,9 \times 10^6$ (IQR $1,8 - 2,7 \times 10^7$). Auch zu diesem Zeitpunkt gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen.

Den longitudinalen Entwicklungsverlauf der HCV-RNA-Replikationsrate post-LTx der Gruppen A, B1 und B2 stellt Abbildung 6 dar. Es werden die Medianwerte prä-LTx, zur Zeit der Randomisierung, nach drei bis sechs Monaten, neun bis zwölf Monaten, nach zwei, drei, vier und fünf Jahren veranschaulicht.

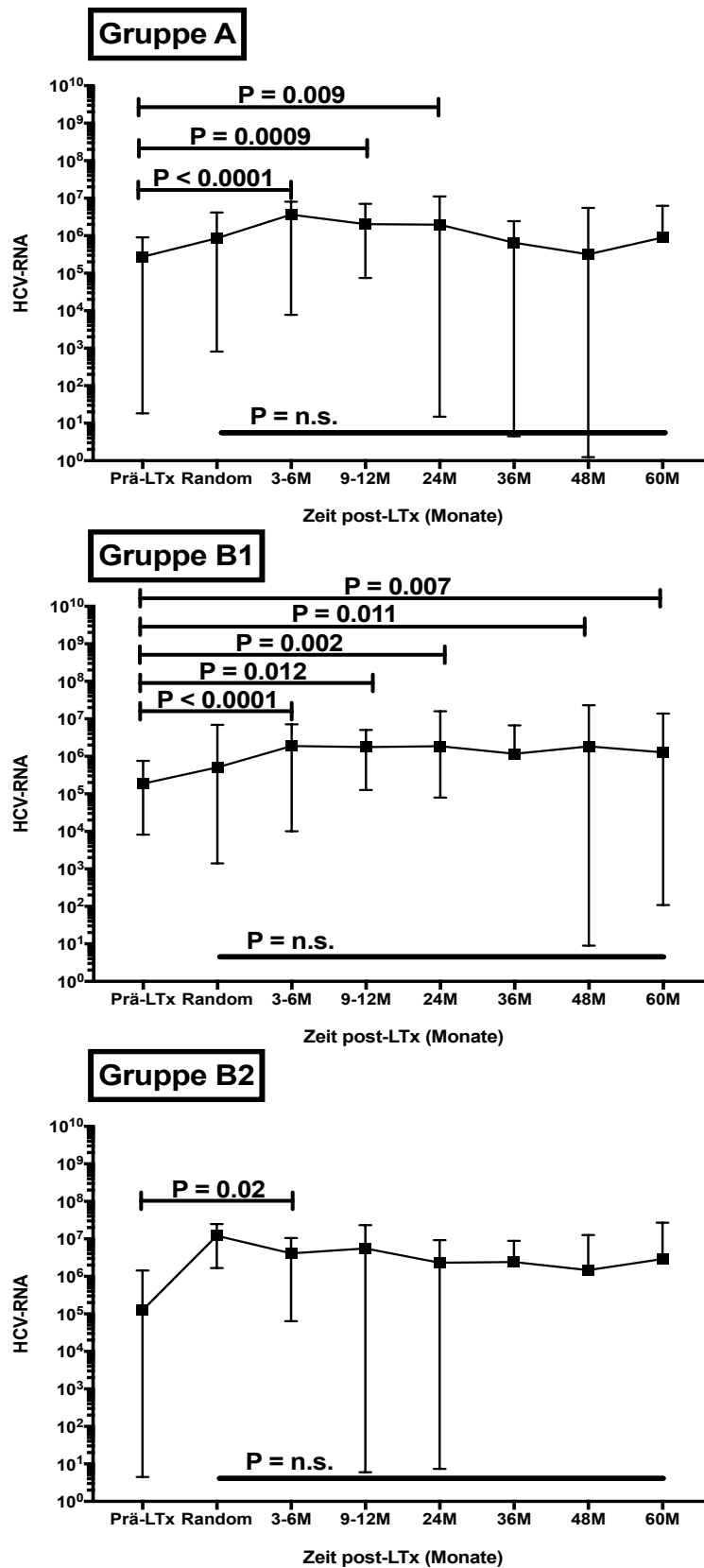


Abbildung 6: Longitudinaler Verlauf der HCV-RNA-Replikationsrate post-LTx (Gruppe A, B1 und B2). Statistik: Median +/- IQR; Wilcoxon matched-pairs signed rank test.

Gruppe A zeigte gegenüber dem Wert prä-LTx nach drei bis sechs Monaten ($p < 0,0001$), nach neun bis zwölf Monaten ($p = 0,0009$) und nach zwei Jahren ($p = 0,009$) einen signifikanten Unterschied in der HCV-RNA-Replikationsrate. Der longitudinale Verlauf der HCV-RNA-Replikationsrate zeigte vom Zeitpunkt der Randomisierung bis zum Studienende (60 Monate später) keinen signifikanten Unterschied. In Gruppe B1 ließ sich im Vergleich zum Zeitpunkt prä-LTx nach drei bis sechs Monaten ($p < 0,0001$), nach neun bis zwölf Monaten ($p = 0,012$), nach zwei Jahren ($p = 0,002$), nach vier Jahren ($p = 0,011$) und nach fünf Jahren ($p = 0,007$) ein signifikanter Unterschied in der HCV-RNA-Replikationsrate feststellen. Auch in Gruppe B1 gab es keinen signifikanten Unterschied im longitudinalen Verlauf der HCV-RNA-Replikationsrate vom Zeitpunkt der Randomisierung bis zum Studienende (60 Monate später). Gruppe B2 zeigte nach drei bis sechs Monaten ($p = 0,02$) einen signifikanten Unterschied gegenüber dem prä-LTx Wert. Der longitudinale Verlauf der HCV-RNA-Replikationsrate zeigte in Gruppe B2 ebenfalls keinen signifikanten Unterschied vom Zeitpunkt der Randomisierung bis zum Studienende (60 Monate später). Weder bei Gruppe B1 (eher Kombinationstherapie) noch bei Gruppe B2 (eher Monotherapie) zeigte sich ein signifikanter Unterschied bezüglich der HCV-RNA-Replikationsrate vom Zeitpunkt der Randomisierung bis zum Studienende (60 Monate). Ein antiviraler Vorteil der auf mTOR-Inhibitor-basierten Immunsuppression gegenüber des auf CNI-basierten Immunsuppressionsprotokolls der Testgruppe A ließ sich dementsprechend zu keinem Zeitpunkt erkennen.

Die Lebertransaminasewerte (ALT) der Testgruppe A im Vergleich zur Gruppe B1 und B2 stellt Abbildung 7 dar. Die Werte sind zum Zeitpunkt der Randomisierung, nach drei bis sechs und neun bis zwölf Monaten, sowie zwei, drei, vier und fünf Jahre nach LTx angegeben.

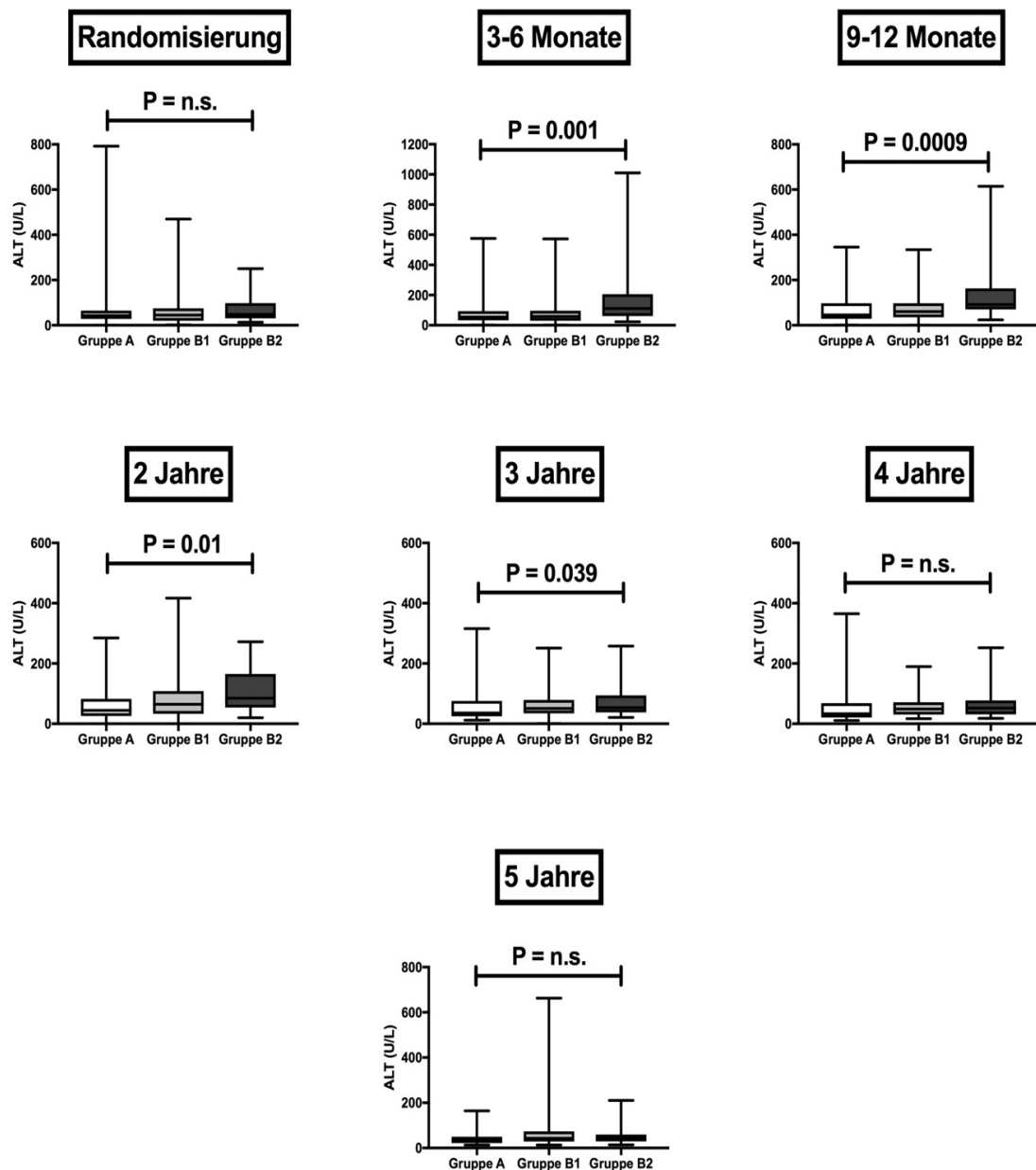


Abbildung 7: Querschnittsvergleich der Lebertransaminasen (ALT) prä- und post-LTx zwischen Gruppe A, B1 und B2. Statistik: Kastengrafik mit Median, IQR und Min/Max; Mann-Whitney Test

Zur Zeit der Randomisierung lag der Medianwert der ALT in Gruppe A bei 43 (IQR 28 – 65), in Gruppe B1 bei 45 (IQR 20 - 75) und B2 bei 49 (IQR 31 – 98). Der p-Wert zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. In der Zeit drei bis sechs Monate nach LTx lag der Medianwert in Gruppe A bei 55 (IQR 33 - 93), in Gruppe B1 bei 59 (IQR 30 – 96) und in Gruppe B2 bei 111 (IQR 61 – 206). Der p-Wert von 0,001 zeigte zu dieser Zeit einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Neun bis zwölf Monate nach LTx lag der Medianwert in Gruppe A bei 46 (IQR 29 – 97), in Gruppe B1 bei 60,5 (IQR 36 – 97) und in Gruppe B2 bei 92 (IQR 70 – 163). Der p-Wert von 0,0009 zeigte erneut einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Nach zwei Jahren lag der Medianwert der Gruppe A bei 44,5 (IQR 26 – 83), in Gruppe B1 bei 65 (IQR 34 – 109) und in Gruppe B2 bei 85 (IQR 54 – 166). Der p-Wert von 0,01 zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Nach drei Jahren lag der Medianwert bei 36 (IQR 25 – 76) in Gruppe A, in Gruppe B1 lag er bei 51 (IQR 35 – 79) und in Gruppe B2 bei 53,5 (IQR 38 – 94). Der p-Wert drei Jahre nach LTx zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen, er lag bei 0,039. Nach vier Jahren lag der Medianwert in Gruppe A bei 33,5 (IQR 21 – 68), in Gruppe B1 49 (IQR 31 – 71) und in Gruppe B2 bei 52 (IQR 31 – 78). Der p-Wert zeigte zu diesem Zeitpunkt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Nach fünf Jahren lag der Medianwert in Gruppe A bei 33 (IQR 22 – 50), in Gruppe B1 bei 43 (IQR 28,75 – 73) und in Gruppe B2 bei 42 (IQR 29 – 59). Der p-Wert zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen nach fünf Jahren.

3.2.3 Analyse des primären Endpunktes (HCC-freies Überleben) und der sekundären Endpunkte (Gesamt-Überleben und HCC-Rezidiv) in den post-hoc-Gruppen A, B1 und B2

Die Kaplan-Meyer-Überlebenskurven der Abbildung 8 zeigen die Entwicklung der post-hoc-Gruppen A, B1 und B2 in Bezug auf ein HCC-freies Überleben, die Ausbildung eines HCC-Rezidivs und des Gesamt-Überlebens.

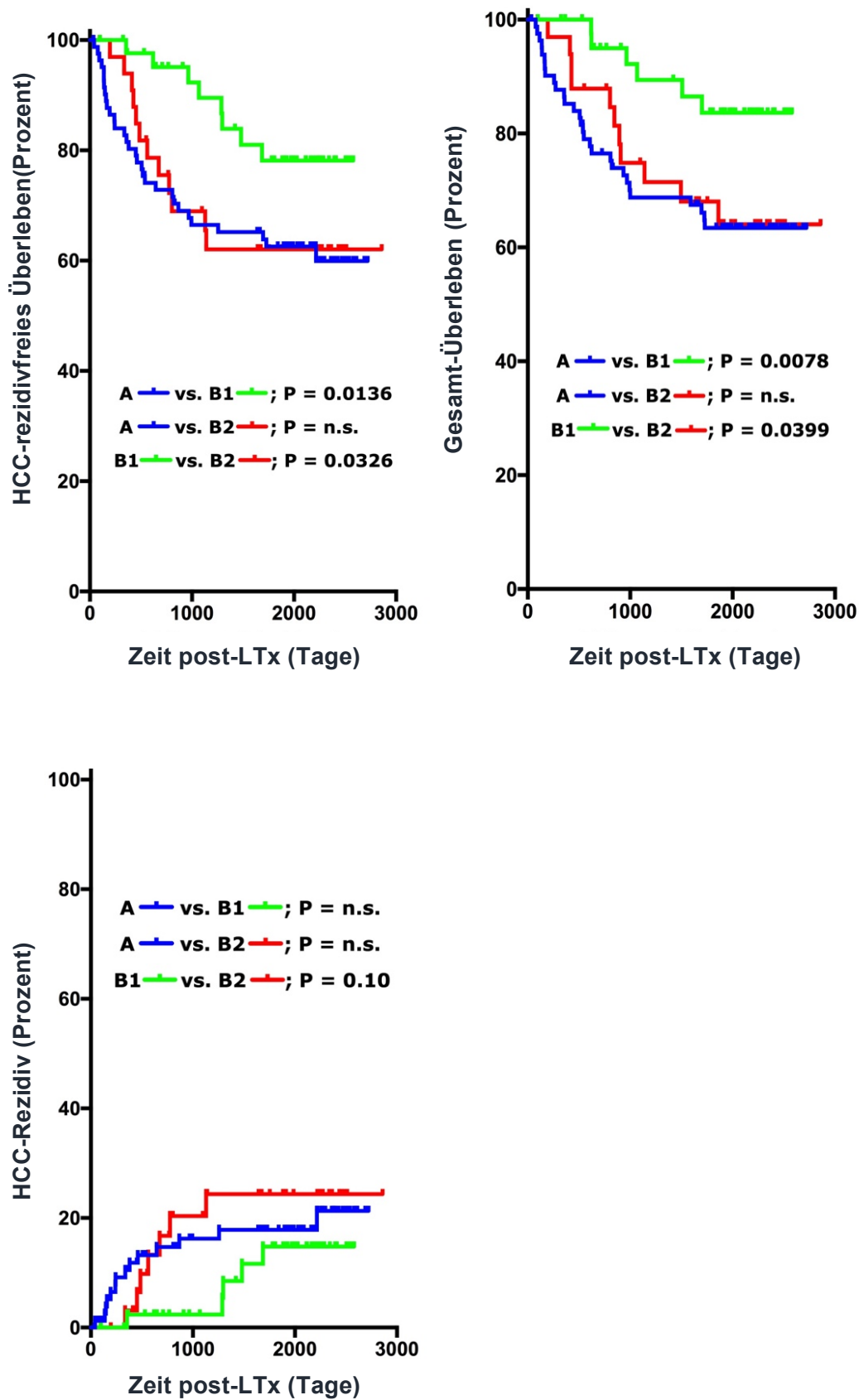


Abbildung 8: Kaplan-Meyer-Überlebenskurven (Gruppe A, B1 und B2).
Statistik: Gehan-Breslow-Wilcoxon test

Bezüglich des primären Endpunktes, das HCC-freie Überleben, wird deutlich, dass Gruppe B1 einen signifikanten Unterschied zu Gruppe A ($p=0,0136$), ebenso wie zu Gruppe B2 ($p=0,0326$) zeigte. Zwischen der Gruppe A und B2 lag kein signifikanter Unterschied. Auch bei der Analyse des sekundären Endpunktes, das Gesamtüberleben, zeigte Gruppe B1 gegenüber Gruppe A ($p=0,0078$) und B2 ($p=0,0399$) einen signifikanten Unterschied. Gruppe A und B2 zeigten keinen signifikanten Unterschied zueinander. Bei der Betrachtung der Kurve zur Ausbildung eines HCC-Rezidivs hingegen, zeigte sich zwischen den Gruppen A, B1 und B2 kein signifikanter Unterschied. Bei Gruppe B1 ($p=0,10$) lässt sich im Vergleich zu Gruppe B2 zwar kein statistisch relevanter Unterschied erkennen, jedoch eine tendenziell bessere Entwicklung der Gruppe B1 gegenüber der Gruppe B2.

4. Diskussion

Die SiLVER-Studie ist eine offene und multizentrische klinische Studie, die prospektiv randomisiert von Januar 2006 bis März 2014 durchgeführt worden ist. Im Rahmen der SiLVER-Studie wurde untersucht, welchen Einfluss ein immunsuppressives Protokoll, basierend auf dem mTOR-Inhibitor Sirolimus (Rapamune®) auf LTx-Patienten mit histologisch bestätigter HCC Diagnose ausübt. Initiiert wurde diese Studie, da der mTOR-Inhibitor Sirolimus über seine immunsuppressive Wirkung hinaus gleichzeitig über krebsbekämpfende (antiangiogenetische und antiproliferative) Effekte verfügt und überprüft werden sollte, ob sich dies post-LTx auf das HCC-freie Patientenüberleben auswirkt. Die insgesamt 523 teilnehmenden LTx-Patienten wurden nach vier bis sechs Wochen in die Studiengruppen A (zentrumsspezifische nicht auf mTOR-Inhibitor-basierte Immunsuppression) und B (auf mTOR-Inhibitor-basierte Immunsuppression) randomisiert. Der Studienzeitraum umfasste insgesamt acht Jahre. Hierzu zählten drei Jahre zur Rekrutierungszeit und fünf Jahre zur Nachbeobachtungszeit. Als primärer Endpunkt der SiLVER-Studie ist das RFS (HCC-freie Überleben), als sekundärer Endpunkt das OS (Gesamtüberleben) und die Entwicklung eines HCC-Rezidivs definiert worden. Geissler E. K. et al. belegen mittels dieser Analyse, dass sich sowohl das RFS als auch das OS innerhalb der ersten drei bis fünf Jahre, insbesondere innerhalb der Niedrigrisikopatientengruppe (Patienten innerhalb der Milan-Kriterien), verbessert.

Der Fokus dieser Arbeit liegt auf dem HCV-positiven Datensatz (166 Patienten) der vorangegangenen SiLVER-Studie. Mit dieser post-hoc-Analyse werden drei Zielsetzungen verfolgt. Im ersten Schritt wird eine Analyse bezüglich des Einflusses, des post-LTx verwendeten Immunsuppressionsprotokolles, auf die HCV-Infektion vorgenommen. Im zweiten Schritt wird herausgearbeitet, in wieweit sich die Ergebnisse der vorangegangenen SiLVER-Studie bezüglich des primären Endpunktes (RFS) auf die HCV-positive Patientengruppe übertragen lassen. Im dritten Schritt erfolgt eine äquivalente Analyse hinsichtlich der sekundären Endpunkte (OS und die Entwicklung eines HCC-Rezidivs).

4.1 Wirkung der Immunsuppression auf die HCV-Replikation

Zu den Hauptursachen für eine LTx gehört sowohl in den USA als auch in Europa die HCV-bedingte Leberzirrhose.(58) Es erleiden nahezu 100% aller LTx-Patienten, bei denen zum Zeitpunkt der LTx eine nachweisbare Viruslast bestand, post-LTx eine HCV-Reinfektion. (59,60) Die Reinfektion des Spenderorgans im postoperativen Verlauf lässt sich auf ein bestehendes Virusreservoir im Blut des LTx-Empfängers zurückführen. Aus diesem Grund kann eine LTx auch nicht zur Ausheilung der HCV-Infektion führen. In den ersten 24h nach Reperfusion des transplantierten Organs wird dabei zunächst ein Abfall der Viruslast im Serum beobachtet.(61) Im weiteren postoperativen Verlauf steigt die HCV-RNA-Replikationsrate jedoch erneut an.(60,62,63) Mit dem Ende des ersten post-LTx-Jahres liegt im Vergleich zum prä-LTx-Zustand regelmäßig ein durchschnittlich 10-20fach erhöhte HCV-RNA-Replikationsrate vor.(64) Dieses Phänomen lässt sich im Rahmen der vorliegenden Arbeit bestätigen. Im postoperativen Verlauf der drei HCV-positiven post-hoc-Gruppen der SiLVER-Studie ist ein signifikanter Anstieg der HCV-RNA-Replikationsrate zu beobachten. Ein signifikanter Anstieg gegenüber dem prä-LTx-Wert zeichnet sich dabei bereits zum Zeitpunkt nach drei bis sechs Monaten innerhalb der Nachbeobachtungszeit ab.

Die nahezu universell auftretende HCV-Reinfektion wird durch den Nachweis von HCV-RNA im Serum diagnostiziert. Hingegen wird für die Diagnose einer erneuten HCV-Hepatitis ein histopathologischer Nachweis oder ein klinisches Korrelat, z.B. ein Anstieg der Lebertransaminasen (ALT-Werte), gefordert.(65) Dementsprechend lässt sich bei einigen Patienten keine erneute HCV-Hepatitis nachweisen.(60) Der stark variable Krankheitsverlauf wird durch zahlreiche Faktoren beeinflusst. Hierzu gehören Faktoren wie das Alter des Spenders (Organe von alten Spendern), eine das Transplantat beeinflussende Komorbidität des LTx-Patienten (metabolisches Syndrom, Komplikationen mit dem Gallengangsystem) sowie eine nicht ausbalancierte Immunsuppression (v.a. die Therapie einer akuten Abstoßung mit Glucocorticoiden).(65)

Eine Herausforderung im post-LTx-Verlauf ist daher die Herstellung einer Balance zwischen optimaler immunsuppressiver Wirkung, um eine Abstoßungsreaktion zu verhindern und der Beibehaltung der antiviralen

Immunität des Wirtes, da sich der immunsupprimierte Zustand selbst zusätzlich begünstigend auf die Entstehung einer HCV-Hepatitis auswirken kann. Verglichen mit dem immunkompetenten Zustand prä-LTx verläuft eine HCV-Hepatitis post-LTx zumeist aggressiver.(66-68) Somit ist bei HCV-positiven LTx-Patienten die Entstehung einer HCV-Hepatitis und das damit einhergehende Risiko einer Fibrose und Zirrhose, ein Hauptrisikofaktor. Sowohl die Transplantat- als auch die Patientenüberlebensraten HCV-positiver LTx-Patienten liegen signifikant unter denen für LTx-Patienten, welche sich aufgrund anders bedingter Zirrhosearten einer LTx unterziehen.(69)

Aus diesem Grunde wurde der Einfluss der einzelnen Immunsuppressiva auf die HCV-RNA-Replikationsrate und die Entstehung einer HCV-Hepatitis bereits in verschiedenen Studien detailliert betrachtet. Insbesondere der Einfluss der Calcineurin-Inhibitoren Cyclosporin A und Tacrolimus, auf HCV-positive Patienten bzw. die HCV-Replikation wurde in zahlreichen *in vivo* und *in vitro* Studien untersucht. In einer experimentellen Studie stellten Liu J. –P. et al. einen auf die HCV-RNA-Replikationsrate hemmenden Effekt von Cyclosporin A fest, welcher gleichzeitig mit einem verstärkenden und wiederherstellenden Effekt auf die intrazelluläre IFN- α -Expression der Hepatozyten verbunden war.(70) Demnach inhibiert eine immunsuppressive Therapie mit Cyclosporin A die HCV-RNA-Replikationsrate und stellt die angeborene Immunität der Hepatozyten durch erhöhte Spiegel von endogenem IFN- α wieder her. Der, die HCV-Replikation hemmende Effekte des CNIs Cyclosporin A, wurde auf die Bindung von intrazellulären Liganden (Cyclophilinen) zurückgeführt, welche dem im Wirkmechanismus ähnlichen Tacrolimus hingegen fehlen.(41) Im Gegensatz dazu stellten Martin P. et al. in einer offenen, multizentrischen und prospektiven Studie, den Einfluss von Tacrolimus und Cyclosporin A auf eine HCV-Hepatitis gegenüber. Von insgesamt 79 teilnehmenden HCV-positiven LTx-Patienten wurden 38 zu Tacrolimus und 41 zu Cyclosporin A als erstes Immunsuppressivum im postoperativen Verlauf randomisiert. Es wurde gezeigt, dass die Wahl des CNIs zu keinem signifikanten Unterschied in dem Schweregrades der HCV-Hepatitis führt.(71)

Anhand dieser Studie lässt sich schlussfolgern, dass die bei *in vitro* Versuchen erkennbare antivirale Wirkung von Cyclosporin A, aufgrund der unterschiedlichen Pharmakokinetik, nicht *in vivo* auf Patienten zu übertragen ist. Im Rahmen der

vorliegenden Arbeit wird dieser Rückschluss ebenfalls bestätigt. Im Zuge der Auswertung der post-hoc-Gruppe A (CNI ohne mTOR-Inhibitor) kann klinisch kein antiviraler Effekt einer auf CNI basierenden Immunsuppression beobachtet werden. Von der Randomisierung bis zum Studienende ist über den gesamten Zeitraum kein signifikanter Unterschied in der HCV-RNA-Replikationsrate erkennbar. Hierbei ist zu beachten, dass die LTx-Patienten der Gruppe A eine zentrumspezifische CNI-Therapie erhielten. Folglich ist innerhalb der Gruppe A nicht weiter unterschieden worden, wie viele Patienten Cyclosporin A bzw. Tacrolimus erhalten haben.

Für die vorliegende Arbeit ist allerdings insbesondere der Einfluss des mTOR-Inhibitors Sirolimus auf die HCV-RNA-Replikationsrate post-LTx von Interesse. Nach immunsuppressiver Therapie mit Sirolimus wurde bereits ein signifikanter Abfall der HCV-RNA-Replikationsrate bei HCV-positiven Nierentransplantatempfängern dokumentiert. Dies geht aus einer offenen, interventionellen und prospektiven Studie von Soliman A. et al. hervor. Im Rahmen dieser Studie wurde untersucht, ob ein Wechsel der Immunsuppression von Cyclosporin A zu Sirolimus die Hepatitis-C-Viruslast verringert.(72) Ein vergleichbarer antiviraler Effekt kann im Rahmen der Analyse der post-hoc-Gruppe B2 (Sirolimus > 50% der Zeit ohne CNI, eher einer Monotherapie entsprechend) jedoch nicht dokumentiert werden. Über den gesamten Nachbeobachtungszeitraum, von der Randomisierung bis zu Studienende, gibt es keinen signifikanten Unterschied in der HCV-RNA-Replikationsrate.

Zusammenfassend können die *in vivo* Ergebnisse der vorliegenden Arbeit die Ergebnisse bisheriger *in vitro* Studien zum Einfluss verschiedener Immunsuppressiva auf die HCV-RNA-Replikationsrate nicht bestätigen.

4.2 Auftreten eines HCC-Rezidivs nach LTx bei Patienten mit HCV

Die LTx ist das einzige, kurative Behandlungsverfahren mit dem gleichzeitig das HCC- und die HCV-bedingt zirrhotisch veränderte Leber therapierbar ist.(73) Diese sowohl durch ein HCC als auch eine HCV-Infektion vorbelastete Patientenpopulation steht im postoperativen Verlauf jedoch einem doppeltem Rezidivrisiko gegenüber. Zum einen der unter 4.1 beschriebenen HCV-Reinfektion bzw. einer rezidivierenden HCV-Hepatitis und zum anderen der Entwicklung eines HCC-Rezidivs.

Für Patienten, die aufgrund eines HCCs eine LTx erhalten, stellt die Entwicklung eines HCC-Rezidivs eine zentrale Komplikation im langfristigen Verlauf post-LTx dar. Zudem steht die große Nachfrage an Spenderlebern einem Defizit an Spenderorganen gegenüber. Hieraus resultieren lange Wartelistenzeiten. Das stetige Fortschreiten der Krankheit während dieser Wartezeit kann somit dazu führen, dass Befunde außerhalb der Einschlusskriterien für eine LTx auftreten. Einige Patienten können somit nicht mehr von einer LTx profitieren, da sie bereits Befunde außerhalb der Einschlusskriterien aufweisen.(74) Daraus folglich unterliegen die Listungskriterien für eine LTx der Anforderung eine relativ zuverlässige Einschätzung darüber zu treffen, welche Patienten ein möglichst geringes Risiko aufweisen ein HCC-Rezidiv zu entwickeln. Bereits 1995 führten Mazzaferro V. et al eine prospektive Kohortenstudie zur Patientenselektion durch. Die Ergebnisse dieser Studie sind heute allgemein unter dem Begriff Milan-Kriterien bekannt. Im Rahmen der Studie wurden 48 LTx-Patienten analysiert, bei denen aufgrund einer HCV- und/ oder HBV-bedingten Leberzirrhose der jeweilige HCC-Herd nicht mehr resektabel war und somit einer LTx zugeführt werden musste. Es wurde aufgezeigt, dass die beste Langzeitprognose bei LTx-Patienten zu erwarten ist, wenn diese zuvor von nur kleineren HCC-Herden betroffen gewesen sind. Als günstiges LTx-Kriterium gilt ein HCC-Herd von ≤ 5 cm im Durchmesser oder bis zu drei HCC-Herde mit jeweils < 3 cm im Durchmesser (jeweils ohne Gefäßinfiltration).(13)

Die weltweite Anerkennung der Milan-Kriterien mit ihrer strikten Patientenselektion hat zu einer wesentlichen Verbesserung der klinischen Ergebnisse post-LTx, gegenüber früheren Langzeitprognosen mit hohen Rezidivraten (vgl. hierzu Iwatsuki et al und O'Grady et al.(75,76)), beigetragen.

Nur 10-30% aller Patienten innerhalb der Milan-Kriterien entwickeln in den ersten fünf Jahren post-LTx ein HCC-Rezidiv. Bei Patienten außerhalb der Milan-Kriterien ist dieses Risiko deutlich erhöht.(77,78) Das erwartete Gesamtüberleben in den ersten fünf Jahren post-LTx der Patienten innerhalb der Milan-Kriterien liegt bei etwa 75%.(79)

Eine gleichermaßen wichtige Rolle bei der Prävention von HCC-Rezidiven im post-LTx-Verlauf spielt eine sorgfältig ausbalancierte Immunsuppression. Wenngleich der therapeutische Nutzen der Immunsuppression überwiegt, stellt der immunsupprimierte Zustand im post-LTx-Verlauf ebenfalls einen ursächlichen Faktor für die Entstehung von HCC-Rezidiven oder *de novo* Malignomen dar.(80) Die verabreichte Immunsuppression kann sich ebenfalls sowohl hemmend, als auch begünstigend, auf ihre Entstehung auswirken. Bisherige Studien zeigten, dass CNIs aufgrund von prokanzerogenen Effekten mit der Entstehung von *de novo* Malignomen korrelieren. Ferner werden hohe CNI-Spiegel in der frühen post-LTx-Phase als Risiko für die Entwicklung eines HCC-Rezidivs angesehen.(81,82) Hingegen soll eine mTOR-Inhibitor-basierte Immunsuppression bei HCC-bedingten LTx-Empfängern verringerte Rezidivraten, ein längeres rezidivfreies Überleben, ein längeres Gesamtüberleben und eine geringere rezidivassoziierte Mortalität fördern.(83) Bei der Karzinogenese des HCC spielt der mTOR-Signalweg, sowohl bei der Tumorangio-genese, als auch der Proliferation eine Rolle. Aus diesem Grund werden mTOR-Inhibitoren nicht nur mit immunsuppressiven, sondern ebenfalls mit Anti-Tumor-Eigenschaften in Verbindung gebracht.(84)

Im Rahmen der SiLVER-Studie bestätigt sich sowohl ein Therapievorteil für Patienten innerhalb der Milan-Kriterien als auch für ein mTOR-Inhibitor-basiertes Immunsuppressionsprotokoll. Insbesondere für Patienten innerhalb der Milan-Kriterien zeigt sich in Gruppe B (mTOR-Inhibitor-basiertes Immunsuppressionsprotokoll) in der frühen post-LTx-Phase, die ersten drei bis fünf Jahre, ein eindeutig verbessertes Ergebnisse bezüglich des rezidivfreien und Gesamtüberlebens.(55)

Die Ergebnisse der vorliegenden post-hoc-Analyse spezifizieren diese Erkenntnisse für die sowohl von HCV als auch HCC betroffene Patientengruppe. Eine Analyse des HCV-positiven Datensatzes mit der präziseren

Gruppeneinteilung A, B1 und B2 zeigt nicht den erwarteten signifikanten Vorteil für die Gruppe B2 ($\geq 50\%$ der Zeit Sirolimus ohne CNI) in der Analyse des primären und sekundären Endpunktes. Hingegen wird in der Endpunktanalyse ein signifikanter Vorteil der Gruppe B1 ($< 50\%$ der Zeit Sirolimus ohne CNI) aufgezeigt. Dies entspricht der Patientengruppe, die eher eine kombinierte immunsuppressive Therapie erhalten hat. Diese signifikant bessere Entwicklung der Gruppe B1 zeigt sich sowohl beim primären als auch sekundären Endpunkt der Studie dem RFS und OS. Im Hinblick auf die Entwicklung eines HCC-Rezidivs lässt der p-Wert von 0,10 der Gruppe B1 gegenüber B2 ebenfalls ein tendenziell besseres Ergebnis erkennen.

Die vorliegende Arbeit verdeutlicht somit, dass sich bei sowohl von HCV als auch HCC betroffenen Patienten die Anforderungen an das Immunsuppressionsprotokoll verändern.

4.3 Erhöhte Transaminasen als Ausdruck der Leberinflammation bei HCV-Patienten mit einer primär mTOR-Inhibitor-basierten Immunsuppression

Die Analyse der ALT-Werte, im Gruppenvergleich A, B1 und B2 über die ersten drei Jahre nach der Randomisierung ergibt eine signifikante Erhöhung in Gruppe B2. Dieser Unterschied, bezogen auf ein Anzeichen einer Leberinflammation, ist insofern bemerkenswert, da zwischen den drei Patientengruppen zeitgleich keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die HCV-RNA-Replikationsrate festzustellen ist. Auch die Verteilung der unterschiedlichen HCV-Genotypen ist ausgeglichen. Hinsichtlich der SVR gab es ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Patientengruppen. Hieraus ergibt sich, dass die erhöhten ALT-Werte wahrscheinlich nicht in direktem Zusammenhang mit der HCV-RNA-Replikation stehen. Die Ergebnisse der vorliegenden Analyse stehen im Gegensatz zu einer prospektiven Kohortenstudie von Wagner et al., die den Einfluss von Sirolimus auf die Entwicklung eines HCV-Rezidivs bei LTx-Empfängern untersucht. Wagner D. et al. stellen keinen signifikanten Anstieg der ALT-Werte unter Sirolimus Monotherapie fest, verweisen jedoch wiederum auf nicht veröffentlichte Ergebnisse von Trotter et al., welche einen Anstieg der ALT-Werte bei HCV-positiven LTx-Empfängern zeigen.(38,85)

In diesem Zusammenhang ist zu berücksichtigen, dass die Umstellung der Immunsuppression auf ein hauptsächlich mTOR-Inhibitor-basiertes Immunsuppressionsprotokoll, entsprechend einer Monotherapie mit Sirolimus, bei Wagner D. et al. erst nach bis zu einem Jahr post-LTx erfolgte. Im Rahmen der vorliegenden Studie mit den Patientengruppen A, B1 und B2 erfolgte die Randomisierung bereits nach vier Wochen. Infolgedessen fand der immunsuppressive Wechsel in der Gruppe B2, welche die erhöhten ALT-Werte aufweist, bereits bis zu 11 Monate früher als bei Wagner et al. statt.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung lässt sich im Gruppenvergleich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich einer akuten Abstoßungsreaktion als Grund für die erhöhten ALT-Werte feststellen. In Bezug auf eine mögliche CMV-Infektion, welche eine weitere Ursache für eine Erhöhung der ALT-Werte der Gruppe B2 darstellen könnte, lässt sich im Gruppenvergleich A, B1 und B2 ebenfalls kein signifikanter Unterschied feststellen. Eine CMV-Infektion als Ursache der ALT-Erhöhung scheidet dementsprechend ebenfalls aus. Eine weitere mögliche Ursache für einen Anstieg der Lebertransaminasen könnte in

der Entwicklung einer ASH bzw. NASH oder einer chronischen AIH begründet liegen. Dies konnte im Rahmen der post-hoc-Analyse nicht weiter analysiert werden, da entsprechende Daten aus der SiLVER-Studie nicht verfügbar sind.

Eine Balance zwischen ausreichender immunsuppressiver Wirkung unter gleichzeitiger Beibehaltung des Anti-Tumor-Effektes zu finden, ist eine besondere Herausforderung bei der Sirolimus-Dosierung. Die Beobachtung zu erhöhten Transaminasen, in der eher einer mTOR-Inhibitor-Monotherapie entsprechenden Gruppe (B2) deutet darauf hin, dass die im Vergleich zu Gruppe B1 geringe RFS- und OS-Rate der Gruppe B2 mit der Leberinflammation in Zusammenhang stehen könnte.

Der mTOR-Inhibitor Sirolimus ist ein wirksames, jedoch etwas schwächeres Immunsuppressivum. In einer internationalen, multizentrischen und randomisierten Studie von Asrani S. K. et al aus dem Jahr 2013 wurde der Einfluss von Sirolimus, in Kombination mit reduzierter Tacrolimusdosis gegenüber Sirolimus mit konventioneller Tacrolimusdosierung, bei LTx-Patienten untersucht. Aufgrund von deutlich höheren Transplantatverlust-, Todes- und Sepsisraten innerhalb der Patientengruppe mit reduzierter Tacrolimusdosis, musste diese Studie nach 21 Monaten jedoch vorzeitig abgebrochen werden.(86) Diese Studie steht im Gegensatz zu vorangegangenen Arbeiten, welche gezeigt hatten, dass eine aus CNI und mTOR-Inhibitor kombinierte, immunsuppressive Therapie, die jeweils nötige Einzeldosis deutlich verringert und auch die Rate akuter Abstoßungsreaktionen senken kann.(87,88)

Die erhöhten ALT-Werte der Gruppe B2 geben jedoch einen Hinweis darauf, dass für das veränderte Immun-Milieu der HCV-positiven Patientengruppe eine auf mTOR-Inhibitor-Monotherapie basierte Immunsuppression einen schwächeren immunsuppressiven Effekt haben könnte. Aufgrund ihrer asymptomatisch verlaufenden Anfangsphase wird die HCV-Infektion häufig erst mit einem Anstieg der ALT-Werte diagnostiziert.(89) Trotz des raschen Anstieges der HCV-RNA setzt die Immunantwort typischerweise jedoch erst verspätet ein. Eine wichtige Rolle bei der Kontrolle der HCV-Infektion spielen die CD8+ -zytotoxischen T-Lymphozyten und die CD4+ T-Helferzellen der adaptiven Immunantwort. Ein Anstieg der HCV-spezifischen T-Zellen wird in der Regel jedoch erst fünf bis neun Wochen nach der HCV-Infektion deutlich. Ein

Anzeichen dafür, dass die virale Clearance durch T-Zellen vermittelt wird, gibt der Abfall des Virustiters. Dieser wird gemeinsam mit dem Anstieg der HCV-spezifischen T-Zellen und der IFN γ -Expression in der Leber beobachtet. Inwieweit IFN γ zur viralen Clearance beiträgt oder nur als Marker für weitere T-Zellfunktionen fungiert ist nicht abschließend geklärt.(89,90) Für eine erfolgreiche HCV-spezifische Immunantwort tragen insbesondere die CD4+ T-Helferzellen bei, wobei ihr Anstieg mit einer zeitgleichen Erhöhung der ALT-Werte einhergeht.(89,91,92) Die in Gruppe B2 signifikant erhöhten ALT-Werte zeigen dementsprechend, dass eine eher auf mTOR-Inhibitor-Monotherapie basierende Immunsuppression einen schwächeren Effekt gegenüber der HCV-spezifischen Immunantwort ausübt. Infolgedessen wird die Leberinflammation begünstigt.

Der in der SiLVER-Studie nachgewiesene Therapievorteil, eines mTOR-Inhibitor-basierten Immunsuppressionsprotokolls in der frühen post-LTx-Phase(55), lässt sich folglich nicht generalisiert auf alle LTx-Empfängeruntergruppen, insbesondere HCV-positive LTx-Empfänger, übertragen. Demzufolge bedarf es erweiterter Analysen durch dafür vorgesehene Studienmodelle.

4.4 HCC-Rezidive nach neuer direkt antiviral wirksamer (DAA) Therapie

Mit der Einführung der DAA-Therapie veränderten sich für chronisch HCV-positive Patienten die Therapiemöglichkeiten deutlich. Durch den Einsatz der DAA-Therapie prä- bzw. post-LTx erübrigt sich nun die Notwendigkeit sich auf den Effekt zu fokussieren, den das Immunsuppressionsprotokoll post-LTx auf das Wiederauftreten bzw. Fortschreiten von HCV bei LTx-Empfängern ausübt. Bei HCV-positiven Patienten, die aufgrund von Leberversagen eine LTx erwarten wird aus diesem Grund eine frühzeitige Behandlung der HCV-Infektion angestrebt, um einer Infektion des Transplantates vorzubeugen.(93)

Chronisch HCV-positive Patienten mit HCC stellen in diesem Zusammenhang eine besondere Patientenpopulation dar. So zeigen einige Publikationen ein erhöhtes Risiko, nach erfolgreich durchgeführter DAA-Therapie und kurativ intendierter HCC-Therapie, ein HCC-Rezidiv zu entwickeln. In einer spanischen Arbeitsgruppe um Reig M. et al. wurden 58 HCV-positive Patienten nach ausschließlich Interferon-freier HCV-Therapie mittels DAA und erfolgreicher kurativ intendierter HCC-Therapie (CR, complete response) untersucht. Die HCC-Therapie erfolgte durch Ablationsverfahren, chirurgische Resektion oder Chemoembolisation. Nach einer medianen Nachbeobachtungszeit von 5,7 Monaten zeigte sich bereits bei 16 Patienten (27,6%) ein radiologisch bestätigtes HCC-Rezidiv.(36) In einer weiteren retrospektiven Studie aus Italien von Conti F. et al. zeigte sich mit einer HCC-Rezidivrate von 28,8% bei interferonfrei und zuvor erfolgreich kurativ intendiert HCC therapiert chronisch HCV-positiven Patienten ein vergleichbares Ergebnis. Die HCC-Therapie erfolgte durch chirurgische Resektion, RFA, TACE und PEI, sowohl einzeln als auch kombiniert angewendet. Die Nachbeobachtungszeit im Anschluss der DAA-Therapie mit sechs Monaten sowie die Patientenanzahl von 59, dieser kombinierten Patientenpopulation (HCV+HCC), sind ebenfalls vergleichbar. Insgesamt wurden in dieser Studie jedoch 285 Patienten mit chronischer HCV-Infektion und Zirrhose, mit und ohne HCC-Vorgeschichte, eingeschlossen. Ein *de novo* HCC entwickelten hiervon 7,6% (26 Patienten).(94)

Ungeachtet einer SVR nach DAA-Therapie bleibt die Entstehung eines HCC-Rezidivs dennoch ein bestehendes Behandlungsproblem. Die hohen SVR-Raten infolge einer DAA-Therapie werden jedoch langfristig dennoch zu einer Senkung

der HCC-Inzidenz führen können. Durch eine frühzeitige Behandlung HCV-positiver Patienten kann einer der Hauptrisikofaktoren für ein HCC, die Entwicklung einer Leberzirrhose, eliminiert werden.(95)

Ein zu vorangegangenen erwähnten Publikationen konträres Ergebnis zeigt hingegen die retrospektive Analyse der ANRS (Agence Nationale de Recherche sur le Sida). Diese retrospektive Analyse bezieht die Daten der drei prospektiven, multizentrischen, französischen ANRS-Substudien CO22 HEPATHER, CO12 CirVir und CO23 CUPILT ein, welche jeweils für die unter DAA-Therapie stehenden Patienten kein angestiegenes Risiko für die Entwicklung eines HCC-Rezidivs zeigten. Insgesamt wurden über 6000 interferonfrei durch DAA-Therapie behandelte HCV-Patienten, welche sich zuvor einer HCC-Therapie unterzogen, einbezogen.(96)

Bei dieser Gegenüberstellung gilt jedoch zu beachten, dass die jeweils erfolgte HCC-Therapie, im Rahmen der spanischen, italienischen und französischen Publikation, von chirurgischen Verfahren wie Resektion und LTx, über Ablationsverfahren, bis hin zu Embolisationsverfahren reicht. Ebenso variiert die Größe der Kohorten, sowie die Dauer der Nachbeobachtungszeit nach erfolgter DAA-Therapie. Aufgrund der widersprüchlichen Ergebnisse aktuell bestehender Publikationen werden weitere prospektive Studien benötigt, um gesichert herauszufinden, inwieweit eine DAA-Therapie die Entstehung von HCC-Rezidiven begünstigt.

Zwischen der interferonbasierten Therapie und der DAA-Therapie liegt einer der Hauptunterschiede in der Kinetik der Viruselimination. Die SVR wird unter DAA-Therapie in der Regel bereits innerhalb von zwölf Wochen erreicht, wohingegen eine interferonbasierte Therapie bis zu 15 Monate benötigt. Aus dieser verkürzten Zeit bis zum Erreichen einer SVR resultiert, insbesondere für aggressive, schnell rezidivierende Tumore, eine größere Wahrscheinlichkeit nach erreichter SVR ein HCC-Rezidiv zu entwickeln.(95) Die verhältnismäßig hohen Raten eines HCC-Rezidivs im Rahmen der DAA-Therapie können jedoch ebenso in der schnellen Viruseliminierung und dem dadurch veränderten Immun-Milieu begründet liegen. So wird durch die schnelle Senkung der HCV-Viruslast die durch die Leberinflammation vermittelte Immunantwort reduziert.(36,95,97,98)

5. Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde eine post-hoc-Analyse der SiLVER-Studie durchgeführt. Die SiLVER-Studie ist eine offen durchgeführte, prospektiv randomisierte klinische Studie, die über einen Zeitraum von acht Jahren (Januar 2006 bis März 2014) an insgesamt 45 Transplantationszentren in Europa (42), Kanada (2) und Australien (1) durchgeführt wurde. Im Rahmen der SiLVER-Studie wurde der Einfluss eines mTOR-Inhibitor-basierten Immunsuppressionsprotokolls mit der Gruppe B gegenüber einer auf CNI-basierten Kontrollgruppe A auf das RFS (HCC-freie Überleben), das OS (Gesamt-Überleben) und die Entwicklung eines HCC-Rezidivs bei LTx-Empfängern aufgrund histologisch bestätigter HCC-Diagnose untersucht. Im Rahmen der post-hoc-Analyse der vorliegenden Arbeit liegt der Fokus auf den 166 HCV-positiven, der insgesamt 523 teilnehmenden, LTx-Empfängern. 88 Patienten zählten zur Gruppe A (CNI-basiertes Immunsuppressionsprotokoll) und 78 zur Gruppe B (mTOR-Inhibitor-basiertes Immunsuppressionsprotokoll). Die SiLVER-Studie zeigt insbesondere für Patienten innerhalb der Milan-Kriterien einen therapeutischen Vorteil der mTOR-Inhibitor-basierten Immunsuppression (Gruppe B) während der ersten drei bis fünf Jahre post-LTx in Bezug auf die RFS und OS Raten. Im Zuge vorliegender post-hoc-Analyse liegt der Fokus auf der Analyse möglicher Einflussfaktoren einer mTOR-Inhibitor-basierten Immunsuppression auf die HCV-Infektion. Äquivalent zur vorangegangenen SiLVER-Studie, wurde ferner ein Einfluss auf das RFS, OS und die HCC-Rezidiventwicklung von HCV-positiven LTx-Empfänger, nach histologisch bestätigter HCC-Diagnose untersucht. Zur Analyse erfolgte eine erweiterte Aufteilung der Gruppe B in B1 (< 50% der Zeit Sirolimus ohne CNI) und B2 (\geq 50% der Zeit Sirolimus ohne CNI). Ein signifikanter Unterschied in Bezug auf die HCV-RNA-Replikationsrate zeigte sich zwischen den drei post-hoc-Gruppen A, B1 und B2 während der gesamten Nachbeobachtung nicht. Dementsprechend kann im Gegensatz zu vorangegangenen *in vitro* Studien mittels vorliegender Analyse ein Einfluss des Immunsuppressionsprotokolls auf die HCV-Infektion *in vivo* nicht bestätigt werden. Verglichen mit den Ergebnissen der vorangegangenen SiLVER-Studie zeigt sich in Bezug auf das RFS und OS ein kontroverses Ergebnis. Denn überraschenderweise wies die Gruppe B1, mit

einem kombinierten Immunsuppressionsprotokoll, in beiden Punkten signifikant bessere Ergebnisse auf. In Anlehnung an die Ergebnisse der SiLVER-Studie wurde mit einem besseren Ergebnis der Gruppe B2, eher einer mTOR-Inhibitor-Monotherapie entsprechend, gerechnet. Ebenso überraschten signifikant erhöhte ALT-Werte in Gruppe B2 innerhalb der ersten drei Jahre post-LTx. Diese signifikante Erhöhung ließ sich als Hinweis darauf werten, dass das veränderte Immunmilieu HCV-positiver Patienten eine Anpassung in der Immunsuppression erfordert, sowie die schlechteren RFS- und OS-Raten der Gruppe B2 durch die Leberinflammation zu interpretieren sind.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass es viele kontroverse Erfahrungsberichte im Hinblick des immunsuppressiven Einflusses auf die HCV-RNA-Replikationsrate und die HCC-Rezidivrate bei HCV-positiven LTx-Empfängern gibt. Die Ergebnisse dieser Arbeit fügen der sich stetig weiterentwickelnden Literatur einen weiteren Aspekt hinzu. Mit dem therapeutischen Wandel in der HCV-Therapie durch die DAA's ergeben sich neue therapeutische Möglichkeiten und Herausforderungen. An dieser Stelle muss auch kritisch erwähnt werden, dass vorliegende post-hoc-Analyse mit insgesamt 166 HCV-positiven Patienten ein verhältnismäßig kleines Patientenkollektiv umfasst. Dementsprechend kann nicht ausgeschlossen werden, dass eine in Hinblick auf die Patientenzahl umfangreichere Analyse zu abweichenden Ergebnissen führen könnte. Um tiefere Rückschlüsse auf die beste immunsuppressive Therapie HCV-positiver LTx-Patienten schließen zu können bedarf es dementsprechend weiterer klinischer Studien insbesondere unter Berücksichtigung einer zuvor erfolgten DAA-Therapie.

6. Abkürzungsverzeichnis

AFP	Alpha-1-Fetoprotein
AIH	Autoimmunhepatitis
ALT	Alanin-Aminotransferase
ASH	alkoholische Steatohepatitis
AST	Aspartat-Aminotransferase
BCLC	Barcelona Clinic Liver Cancer
BSC	best supportive care
CLIP	Cancer of the Liver Italian Program
CNI	Calcineurin-Inhibitor
CR	complete response
CsA	Cyclosporin A
CT	Computertomografie
CUPI	the Chinese University Prognostic Index
DAA	direct acting antivirals (direkt antiviral wirksame Medikamente)
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EBV	Epstein-Barr-Virus
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HBV	Hepatitis B Virus
HCC	hepatocellular carcinoma (Hepatozelluläres Karzinom)
HCV	Hepatitis C Virus
HHV	Humanes Herpesvirus
HKLC	Hong-Kong Liver Cancer
HPV	humane Papillomviren

IFN	Interferon
IMPD	Ionosinmonophosphat-Dehydrogenase
JIS	Japan Integrated Staging
LTx	Lebertransplantation
MMF	Mycophenolatmofetile
MPA	Mycophenolsäure
MRT	Magnetresonanztomographie
MWA	Mikrowellen-Ablation
NASH	nicht alkoholische Steatohepatitis
NFAT	nuclear factor of activated T-cells
NF-kB	Nuclear Factor k-B
OS	overall survival (Gesamtüberleben)
PEI	Perkutane Ethanol Injektion
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PTLD	Posttransplantations-Lymphoproliferative Erkrankung
PVA	Polyvinylalkohol
RFA	Radiofrequenz-Ablation
RFS	recurrence free survival (Rezidiv freies Überleben)
RNA	Ribonukleinsäure
SIRT	Selektive intraarterielle Radiotherapie
SRL	Sirolimus
SVR	sustained virologic response (anhaltendes virologisches Ansprechen)
TACE	Transarterielle Chemoembolisation
TAE	Transarterielle Embolisation

7. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Querschnittsvergleich der HCV-RNA-Replikationsrate prä- und post-LTx zwischen Gruppe A und B	S. 32
Abb. 2	Longitudinaler Verlauf der HCV-RNA-Replikationsrate post-LTx (Gruppe A und B)	S. 34
Abb. 3	Querschnittsvergleich der Lebertransaminasen (ALT) prä- und post-LTx zwischen Gruppe A und B	S. 36
Abb. 4	Kaplan Meyer Überlebenskurven (Gruppe A und B)	S. 38
Abb. 5	Querschnittsvergleich der HCV-RNA-Replikationsrate prä- und post-LTx zwischen Gruppen A und B1 und B2	S. 46
Abb. 6	Longitudinaler Verlauf der HCV-RNA-Replikationsrate post-LTx (Gruppe A, B1 und B2)	S. 48
Abb. 7	Querschnittsvergleich der Lebertransaminasen (ALT) prä- und post-LTx zwischen Gruppe A, B1 und B2	S. 50
Abb. 8	Kaplan Meyer Überlebenskurven (Gruppe A, B1 und B2)	S. 52

8. Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Beschreibung der Studienteilnehmer (Gruppe A und B)	S. 26
Tab. 2	Detaillierte Charakterisierung des HCCs (Gruppe A und B)	S. 27
Tab. 3	Charakterisierung der HCV-Infektion (Gruppe A und B)	S. 29
Tab. 4	Ereignisse während der Nachbeobachtungszeit (Gruppe A und B) ..	S. 30
Tab. 5	Beschreibung der Studienteilnehmer (Gruppe A, B1 und B2)	S. 40
Tab. 6	Detaillierte Charakterisierung des HCCs (Gruppe A, B1 und B)	S. 41
Tab. 7	Charakterisierung der HCV-Infektion (Gruppe A, B1 und B2)	S. 42
Tab. 8	Ereignisse während der Nachbeobachtungszeit (Gruppe A, B1 und B2)	S. 44

9. Literaturverzeichnis

1. European Association for the Study of the Liver, European Organisation for Research and Treatment of Cancer. EASL-EORTC Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *Journal of Hepatology*. 2012 Apr;56(4):908–43.
2. El-Serag HB, Kanwal F. Epidemiology of hepatocellular carcinoma in the United States: where are we? Where do we go? *Hepatology*. 2014 Nov;60(5):1767–75.
3. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*. 2014 Okt;136(5):E359–86.
4. El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular Carcinoma: Epidemiology and Molecular Carcinogenesis. *Gastroenterology*. 2007 Jun;132(7):2557–76.
5. Farrell G. Insulin resistance, obesity, and liver cancer. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2014 Jan;12(1):117–9.
6. Bruix J, Llovet JM. Major achievements in hepatocellular carcinoma. *The Lancet*. 2009 Feb;373(9664):614–6.
7. Amin MB, Edge SB, Greene FL, Byrd DR, Brookland RK, Washington MK, et al. *AJCC Cancer Staging Manual*. Achte Auflage Springer; 2018.
8. Greten TF, Malek NP, Schmidt S, Arends J, Bartenstein P, Bechstein W, et al. Diagnostik und Therapie des hepatozellulären Karzinoms. *Zeitschrift für Gastroenterologie*. 2013 Nov;51(11):1269–326.
9. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *American Journal of Clinical Oncology*. 1982 Dez;5(6):649.
10. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *The British Journal of Surgery*. 1973 Aug;60(8):646–9.
11. Gressner AM, Gressner OA. Child-Turcotte-Pugh-Score. In: Gressner AM, Arndt T, (Hrsg.) *Medizinische Labordiagnostik von A bis Z*. Springer; 2019. S. 564.
12. Liver EAFTSOT, Research EOF, Cancer TO. EASL–EORTC Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *Journal of Hepatology*. 2012 Apr;56(4):908–43.

13. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, et al. Liver Transplantation for the Treatment of Small Hepatocellular Carcinomas in Patients with Cirrhosis. *New England Journal of Medicine*. 1996 Mrz;334(11):693–700.
14. de Lope CR, Tremosini S, Forner A, Reig M, Bruix J. Management of HCC. *Journal of Hepatology*. 2012;56(Supplement 1):S75–S87.
15. BIRTH M, Hildebrand P. Klassifikation und Technik der Leberresektion. In: BIRTH M, IITTEL TH, PEREIRA PL, (Hrsg.) *Hepatobiliäre und Pankreastumoren*. Springer; 2010. S. 156–65.
16. El-Serag HB. Hepatocellular Carcinoma. *New England Journal of Medicine*. 2011 Sep;365(12):1118–27.
17. Bornschein J, Schlosser S, Schreyer AG, Müller-Schilling M. Das hepatozelluläre Karzinom. *Gastroenterologie*. 2016 Aug;11(5):368–82.
18. Starzl TE, Groth CG, Brettschneider L, Penn I, Fulginiti VA, Moon JB, et al. Orthotopic homotransplantation of the human liver. *Annals of Surgery*. 1968 Sep;168(3):392–415.
19. Jachertz N. Organtransplantation: Gewagte Entscheidung. *Deutsches Ärzteblatt*. 2009 Jun;106(25):1294.
20. Carmona M, Álvarez M, Marco J, Mahillo B, Domínguez-Gil B, Núñez JR, et al. Global Organ Transplant Activities in 2015. Data from the Global Observatory on Donation and Transplantation (GODT). *Transplantation*. 2017 Aug;101(1):S29.
21. Song ATW. Liver transplantation: Fifty years of experience. *World Journal of Gastroenterology*. 2014 Mai;20(18):5363–13.
22. Broelsch CE, Whittington PF, Emond JC, Heffron TG, Thistlethwaite JR, Stevens L, et al. Liver transplantation in children from living related donors. Surgical techniques and results. *Annals of Surgery*. 1991 Okt;214(4):428–39.
23. Forman LM, Lewis JD, Berlin JA, Feldman HI, Lucey MR. The association between hepatitis C infection and survival after orthotopic liver transplantation. *Gastroenterology*. 2002 Apr;122(4):889–96.
24. Vogl TJ, Zangos S, Balzer JO, Nabil M, Rao P, Eichler K, et al. Transarterielle Chemoembolisation (TACE) des hepatozellulären Karzinoms: Technik, Indikationsstellung und Ergebnisse. *Röfo: Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen und der Nuklearmedizin*. 2007 Nov;179(11):1113–26.
25. Keating GM, Santoro A. Sorafenib: A review of its use in advanced hepatocellular carcinoma. *Drugs*. 2009 Jan;69(2):223–40.

26. Sangiovanni A, Colombo M. Treatment of hepatocellular carcinoma: Beyond international guidelines. *Liver International*. 2016 Jan;36(Supplement 1):124–9.
27. Weiner AJ, Kuo G, Bradley DW, Bonino F, Saracco G, Lee C, Rosenblatt J, et al. Detection of hepatitis C viral sequences in non-A, non-B hepatitis. *The Lancet*. 1990 Jan;335(8680):1–3.
28. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, Muerhoff AS, Rice CM, Stapleton JT, et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: Updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology*. 2014 Jan;59(1):318–27.
29. Chinnadurai R, Velazquez V, Grakoui A. Hepatic transplant and HCV: a new playground for an old virus. *American Journal of Transplantation*. 2012 Feb;12(2):298–305.
30. McGovern BH, Wurcel A, Kim AY, Wiesch zur JS, Bica I, Zaman MT, et al. Acute Hepatitis C Virus Infection in Incarcerated Injection Drug Users. *Clinical Infectious Diseases*. 2006 Jun;42(12):1663–70.
31. Doerrbecker J, Friesland M, Ciesek S, Erichsen TJ, Mateu-Gelabert P, Steinmann J, et al. Inactivation and Survival of Hepatitis C Virus on Inanimate Surfaces. *The Journal of Infectious Diseases*. 2011 Dez;204(12):1830–8.
32. Doerrbecker J, Behrendt P, Mateu-Gelabert P, Ciesek S, Riebesehl N, Wilhelm C, et al. Transmission of Hepatitis C Virus Among People Who Inject Drugs: Viral Stability and Association With Drug Preparation Equipment. *The Journal of Infectious Diseases*. 2013 Jan;207(2):281–7.
33. Heller T, Werner JM, Rahman F, Mizukoshi E, Sobao Y, Gordon AM, et al. Occupational Exposure to Hepatitis C Virus: Early T-Cell Responses in the Absence of Seroconversion in a Longitudinal Cohort Study. 2013 Jun;208(6):1020–5.
34. Zimmermann R, Seidel J, Simeonova Y, Schmidt D. Hepatitis C im Jahr 2016. *Epidemiologisches Bulletin*. 2017 Jul;21(30):279–96.
35. Westbrook RH, Dusheiko G. Natural history of hepatitis C. *Journal of Hepatology*. 2014 Nov;61(Supplement 1):S58–68.
36. Reig MA, Mariño Z, Perelló C, Iñarrairaegui M, Ribeiro A, Lens S, et al. Unexpected high rate of early tumor recurrence in patients with HCV-related HCC undergoing interferon-free therapy. *Journal of Hepatology*. 2016 Okt;65(4):719–26.
37. Sarrazin C, Zimmermann T, Berg T, Neumann UP, Schirmacher P, Schmidt H, et al. S3-Leitlinie „Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Hepatitis-C-Virus (HCV) -Infektion“. *Zeitschrift für Gastroenterologie*. 2018 Jun;56(07):756–838.

38. Trotter JF. Sirolimus in liver transplantation. *Transplantation Proceedings*. 2003 Mai;35(Supplement 3):S193–200.
39. Bartels M, Nagel E, Transplantationen. In: Kaiser H, Kley HK, (Hrsg.) *Cortisontherapie*. 11 Auflage. Thieme Verlag; 2002. S. 452–60.
40. European Association for the Study of the Liver, EASL Clinical Practice Guidelines: Liver transplantation. *Journal of Hepatology*. 2016 Feb;64(2):433–85.
41. Nakagawa M, Sakamoto N, Tanabe Y, Koyama T, Itsui Y, Takeda Y, et al. Suppression of hepatitis C virus replication by cyclosporin a is mediated by blockade of cyclophilins. *Gastroenterology*. 2005 Sep;129(3):1031–41.
42. Matsuda S, Koyasu S. Mechanisms of action of cyclosporine. *Immunopharmacology*. 2000 Mai;47(2-3):119–25.
43. Guba M, Breitenbuch von P, Steinbauer M, Koehl G, Flegel S, Hornung M, et al. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nature Medicine International Journal*. 2002 Feb;8(2):128–35.
44. Sehgal SN. Rapamune®(RAPA, rapamycin, sirolimus): Mechanism of Action Immunosuppressive Effect Results From Blockade of Signal Transduction and Inhibition of Cell Cycle Progression. *Clinical Biochemistry*. 1998 Jul;31(5):335–40.
45. Cardenas ME, Zhu D, Heitman J. Molecular mechanisms of immunosuppression by cyclosporine, FK506, and rapamycin. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. 1995 Nov;4(6):472–7.
46. Allison AC, Eugui EM. Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action. *Immunopharmacology*. 2000 Mai;47(2-3):85–118.
47. Albekairy AM, Abdel-Razaq WS, Alkatheri AM, Debasi TMA, Otaibi NEA, Qandil AM. The impact of immunosuppressant therapy on the recurrence of hepatitis C post-liver transplantation. *International Journal of Health Sciences*. 2018 Jul;12(4):78–87.
48. De Bosscher K, Vanden Berghe W, Haegeman G. Mechanisms of anti-inflammatory action and of immunosuppression by glucocorticoids: negative interference of activated glucocorticoid receptor with transcription factors. *Journal of Neuroimmunology*. 2000 Sep;109(1):16–22.
49. Geissler EK. Post-transplantation malignancies: here today, gone tomorrow? *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2015 Okt;12(12):705–17.

50. Herman M, Weinstein T, Korzets A, Chagnac A, Ori Y, Zevin D, et al. Effect of cyclosporin A on DNA repair and cancer incidence in kidney transplant recipients. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 2001 Jan;137(1):14–20.
51. Chapman JR, Webster AC, Wong G. Cancer in the transplant recipient. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2013 Jul;3(7):1–15.
52. Ondrus D, Pribylincová V, Breza J, Bujdák P, Miklosi M, Rezníček J, et al. The incidence of tumours in renal transplant recipients with long-term immunosuppressive therapy. *International Urology and Nephrology*. 1999 Jul;31(4):417–22.
53. Hojo M, Morimoto T, Maluccio M, Asano T, Morimoto K, Lagman M, et al. Cyclosporine induces cancer progression by a cell-autonomous mechanism. *Nature*. 1999 Feb;397(6719):530–4.
54. Schnitzbauer AA, Zuelke C, Graeb C, Rochon J, Bilbao I, Burra P, et al. A prospective randomised, open-labeled, trial comparing sirolimus-containing versus mTOR-inhibitor-free immunosuppression in patients undergoing liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer*. 2010 Mai;10(1):1–8.
55. Geissler EK, Schnitzbauer AA, Zülke C, Lamby PE, Proneth A, Duvoux C, et al. Sirolimus Use in Liver Transplant Recipients With Hepatocellular Carcinoma: A Randomized, Multicenter, Open-Label Phase 3 Trial. *Transplantation*. 2016 Jan;100(1):116–25.
56. Shao R-X, Zhang L, Peng LF, Sun E, Chung WJ, Jang JY, et al. Suppressor of cytokine signaling 3 suppresses hepatitis C virus replication in an mTOR-dependent manner. *Journal of Virology*. 2010 Jun;84(12):6060–9.
57. Peng L, Liang D, Tong W, Li J, Yuan Z. Hepatitis C virus NS5A activates the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway, contributing to cell survival by disrupting the interaction between FK506-binding protein 38 (FKBP38) and mTOR. *The Journal of Biological Chemistry*. 2010 Jul;285(27):20870–81.
58. Rodriguez-Luna H, Douglas DD. Natural history of hepatitis C following liver transplantation. *Current Opinion in Infectious Diseases*. 2004 Aug;17(4):363–71.
59. Wright TL, Donegan E, Hsu HH, Ferrell L, Lake JR, Kim M, et al. Recurrent and acquired hepatitis C viral infection in liver transplant recipients. *Gastroenterology*. 2003 Aug;103(1):317–22.
60. Vierling JM, Villamil FG, Rojter SE, Camacho KB, Goldman DE. Morbidity and mortality of recurrent hepatitis C infection after orthotopic liver transplantation. *Journal of Viral Hepatitis*. 1997 Sep;4 (Supplement 1):117–24.

61. Brown RS. Hepatitis C and liver transplantation. *Nature*. 2005 Aug;436(7053):973–8.
62. Gane EJ, Naoumov NV, Qian KP, Gastroenterology MM, 1996. A longitudinal analysis of hepatitis C virus replication following liver transplantation. 1996 Jan;110(1):167–77.
63. Gretch DR, Bacchi CE, Corey L, Hepatology CR, (null). Persistent hepatitis C virus infection after liver transplantation: clinical and virological features. 1995 Jul;22(1):1–9.
64. Sreekumar R. Early Identification of Recipients With Progressive Histologic Recurrence of Hepatitis C After Liver Transplantation. *Hepatology*. 2000 Nov;32(5):1125–30.
65. Vinaixa C, Rubín A, Aguilera V, Berenguer M. Recurrence of hepatitis C after liver transplantation. *Annals Gastroenterology*. 2013 Jun;26(4):304–13.
66. Berenguer M, Ferrell L, Watson J, Prieto M, Kim M, Rayón M, et al. HCV-related fibrosis progression following liver transplantation: increase in recent years. *Journal of Hepatology*. Elsevier; 2000 Apr;32(4):673–84.
67. Yilmaz N, Shiffman ML, Stravitz RT, Sterling RK, Luketic VA, Sanyal AJ, et al. A prospective evaluation of fibrosis progression in patients with recurrent hepatitis C virus following liver transplantation. *Liver Transplantation*. 2007 Jul;13(7):975–83.
68. Neumann UP, Berg T, Bahra M, Seehofer D, Langrehr JM, Neuhaus R, et al. Fibrosis progression after liver transplantation in patients with recurrent hepatitis C. *Journal of Hepatology*. 2004 Nov;41(5):830–6.
69. Kniepeiss D, Iberer F, Grasser B, Schaffellner S, Stadlbauer V, Tscheliessnigg K-H. A single-center experience with retrograde reperfusion in liver transplantation. *Transplant International*. 2003 Okt;16(10):730–5.
70. Liu JP, Ye L, Wang X, Li JL, Ho WZ. Cyclosporin A inhibits hepatitis C virus replication and restores interferon-alpha expression in hepatocytes. *Transplant Infectious Disease*. 2011 Feb;13(1):24–32.
71. Martin P, Busuttil RW, Goldstein RM, Crippin JS, Klintmalm GB, Fitzsimmons WE, et al. Impact of tacrolimus versus cyclosporine in hepatitis C virus-infected liver transplant recipients on recurrent hepatitis: a prospective, randomized trial. *Liver Transplantation*. 2004 Okt;10(10):1258–62.
72. Soliman A, Fathy A, Khashab S, Shaheen N, Soliman M. Sirolimus conversion may suppress viral replication in hepatitis C virus-positive renal transplant candidates. *Experimental and Clinical Transplantation*. 2013 Okt;11(5):408–11.

73. Adam R, Azoulay D, Castaing D, Eshkenazy R, Pascal G, Hashizume K, et al. Liver Resection as a Bridge to Transplantation for Hepatocellular Carcinoma on Cirrhosis. *Transactions of the Meeting of the American Surgical Association*. 2003 Okt;121:201–12.
74. Llovet JM, Fuster J, Bruix J. Intention-to-treat analysis of surgical treatment for early hepatocellular carcinoma: resection versus transplantation. *Hepatology*. 1999 Dez;30(6):1434–40.
75. Iwatsuki S, Gordon RD, Shaw BW, Jr, Starzl TE. Role of liver transplantation in cancer therapy. *Annals of Surgery*. 1985 Okt;202(4):401–7.
76. O'Grady JG, Polson RJ, Rolles K, Calne RY, Williams R. Liver transplantation for malignant disease. Results in 93 consecutive patients. *Annals of Surgery*. 1988 Apr;207(4):373–9.
77. Zimmerman MA, Trotter JF, Wachs M, Bak T, Campsen J, Skibba A, et al. Sirolimus-based immunosuppression following liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Liver Transplantation*. 2008 Mai;14(5):633–8.
78. Penn I, Starzl TE. Malignant tumors arising de novo in immunosuppressed organ transplant recipients. *Transplantation*. 1972 Okt;14(4):407–17.
79. Gunsar F. Liver Transplantation for Hepatocellular Carcinoma Beyond the Milan Criteria. *Experimental and Clinical Transplantation*. 2017 Mrz;15(Supplement 2):59–64.
80. Thorat A, Jeng L-B, Yang H-R, Yeh C-C, Hsu S-C, Chen T-H, et al. Assessing the role of everolimus in reducing hepatocellular carcinoma recurrence after living donor liver transplantation for patients within the UCSF criteria: re-inventing the role of mammalian target of rapamycin inhibitors. *Annals of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery*. 2017 Nov;21(4):205–11.
81. Moini M. Review on immunosuppression in liver transplantation. *World Journal of Hepatology*. 2015 Jun;7(10):1355–15.
82. Vivarelli M, Cucchetti A, Piscaglia F, La Barba G, Bolondi L, Cavallari A, et al. Analysis of risk factors for tumor recurrence after liver transplantation for hepatocellular carcinoma: Key role of immunosuppression. *Liver Transplantation*. 2005 Mai;11(5):497–503.
83. Menon KV, Hakeem AR, Heaton ND. Meta-analysis: recurrence and survival following the use of sirolimus in liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2013 Feb;37(4):411–9.
84. Finn RS. Current and Future Treatment Strategies for Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma: Role of mTOR Inhibition. *Liver Cancer*. 2012 Nov;1(3-4):247–56.

85. Wagner D, Kniepeiss D, Schaffellner S, Jakoby E, Mueller H, Fahrleitner-Pammer A, et al. Sirolimus has a potential to influence viral recurrence in HCV positive liver transplant candidates. *International Immunopharmacology*. 2010 Aug;10(8):990–3.
86. Asrani SK, Wiesner RH, Trotter JF, Klintmalm G, Katz E, Maller E, et al. De novo sirolimus and reduced-dose tacrolimus versus standard-dose tacrolimus after liver transplantation: the 2000-2003 phase II prospective randomized trial. *American Journal of Transplantation*. 2014 Feb;14(2):356–66.
87. McAlister VC, Peltekian KM, Malatjalian DA, Colohan S, MacDonald S, Bitter-Suermann H, et al. Orthotopic liver transplantation using low-dose tacrolimus and sirolimus. *Liver Transplantation*. 2001 Aug;7(8):701–8.
88. Trotter JF, Wachs M, Bak T, Trouillot T, Stolpman N, Everson GT, et al. Liver transplantation using sirolimus and minimal corticosteroids (3-day taper). *Liver Transplantation*. 2001 Apr;7(4):343–51.
89. Rehmann B. Hepatitis C virus versus innate and adaptive immune responses: a tale of coevolution and coexistence. *Journal of Clinical Investigation*. 2009 Jul;119(7):1745–54.
90. Jo J, Aichele U, Kersting N, Klein R, Aichele P, Bisse E, et al. Analysis of CD8+ T-cell-mediated inhibition of hepatitis C virus replication using a novel immunological model. *Gastroenterology*. 2009 Apr;136(4):1391–401.
91. Diepolder HM, Zachoval R, Hoffmann RM, Jung M-C, Pape GR, Wierenga EA, et al. Possible mechanism involving T-lymphocyte response to non-structural protein 3 in viral clearance in acute hepatitis C virus infection. *The Lancet*. 1995 Okt;346(8981):1006–7.
92. Missale G, Bertoni R, Lamonaca V, Valli A, Massari M, Mori C, et al. Different clinical behaviors of acute hepatitis C virus infection are associated with different vigor of the anti-viral cell-mediated immune response. *Journal of Clinical Investigation*. 1996 Aug;98(3):706–14.
93. Curry MP, Forns X, Chung RT, Terrault NA, Brown R, Fenkel JM, et al. Sofosbuvir and ribavirin prevent recurrence of HCV infection after liver transplantation: an open-label study. *Gastroenterology*. 2015 Jan;148(1):100–1.
94. Conti F, Buonfiglioli F, Scuteri A, Crespi C, Bolondi L, Caraceni P, et al. Early occurrence and recurrence of hepatocellular carcinoma in HCV-related cirrhosis treated with direct-acting antivirals. *Journal of Hepatology*. 2016 Aug;65(4):1–7.
95. Wörns M-A, Galle PR, Zeuzem S, Schirmacher P, Manns M, Vogel A. Drug Treatment for Chronic Hepatitis C Infection and Cancer Risk. *Deutsches Ärzteblatt Online*. 2017 Sep;114(35-36):597–602.

96. The ANRS collaborative study group on hepatocellular carcinoma ANRS CO22 HEPATHER CCACCC. Lack of evidence of an effect of direct-acting antivirals on the recurrence of hepatocellular carcinoma: Data from three ANRS cohorts. *Journal of Hepatology*. 2016 Okt;65(4):734–40.
97. Meissner EG, Wu D, Osinusi A, Bon D, Virtaneva K, Sturdevant D, et al. Endogenous intrahepatic IFNs and association with IFN-free HCV treatment outcome. *Journal of Clinical Investigation*. 2014 Aug;124(8):3352–63.
98. Serti E, Chepa-Lotrea X, Kim YJ, Keane M, Fryzek N, Liang TJ, et al. Successful Interferon-Free Therapy of Chronic Hepatitis C Virus Infection Normalizes Natural Killer Cell Function. *Gastroenterology*. 2015 Jul;149(1):190–2.

10. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Privatdozent Dr. Jens M. Werner. Mit der Überlassung dieses spannenden Themas hat sich für mich die bereichernde Möglichkeit geboten, ein weit über die Zahnmedizin hinausreichendes Themenfeld der Medizin kennenlernen zu dürfen. Vielen Dank für die wertvolle Unterstützung im Entstehungsprozess dieser Dissertation.

Herrn Professor Dr. Hans J. Schlitt und Herrn Professor Dr. Edward K. Geissler, welche diese Dissertation ermöglicht haben, möchte ich an dieser Stelle meinen Dank aussprechen.

Ebenso danke ich bei dieser Gelegenheit dem gesamten Team der SiLVER-Studie.

Den zahlreichen Patientinnen und Patienten, die im Rahmen der SiLVER-Studie teilgenommen haben, gilt an dieser Stelle ebenfalls besondere Erwähnung und mein aufrichtiger Dank. Jeder Einzelne hat durch die Teilnahme an diesem Studienprogramm einen nachhaltigen Beitrag dazu geleistet, den Stand der Forschung auch für nachfolgend Betroffene weiterentwickeln zu können. Ohne ihre Zustimmung wäre die Realisierung der SiLVER-Studie nicht möglich gewesen.

Von ganzem Herzen gilt an dieser Stelle mein ausdrücklicher Dank all denen, die mich während des Entstehungsprozesses dieser Dissertation begleitet und in so vielerlei Hinsicht unterstützt haben.