

## Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie

### ■ Direktor: Prof. Dr. Jürgen Klempnauer

Tel.: 0511/532-6534 • E-Mail: klempnauer.juergen@mh-hannover.de • www.mh-ahnover.de/ach.html

■ Keywords: Transplantations-Immunologie, Infektiologie, cellulaere Immunologie

### Forschungsprofil

Der Haupt-Forschungsschwerpunkt der Klinik liegt im transplantationsimmunologischen Bereich. Bearbeitet werden hierbei Fragestellungen zur Toleranzinduktion und Bedeutung regulatorischer Zellen nach Organtransplantation solider Organe. Diese Untersuchungen werden sowohl an transplantierten Patienten als auch in verschiedenen Kleintiermodellen durchgeführt. Hiermit verbunden sind immungenetische Untersuchungen der Versuchstier-spezies Ratte, die in der experimentellen Transplantations-forschung neben der Maus eine besondere Rolle spielt.

Ein weiteres Forschungsgebiet der Abteilung stellen Untersuchungen zur Immunologie, Physiologie und Infektsicherheit nach diskordanter Xenotransplantation dar. Diese durch die DFG geförderten Arbeiten (Transregio-Sonderforschungsbereich 127) werden mittels geeigneter *in vitro*, *ex-vivo* und *in-vivo* Experimenten durchgeführt.

Ein dritter Forschungsschwerpunkt der Klinik liegt in der Erforschung neuer Strategien zur Behandlung von primären und sekundären Lebertumoren. Ziel ist es hierbei einerseits, molekulare Therapiekonzepte zur verbesserten Behandlung primärer und sekundärer Malignome der Leber auf der Basis einer Hemmung von Regulatorgenen zu entwickeln. Hierzu laufen aktuell translationale Untersuchungen in enger Kooperation mit der Grundlagenforschung. Andererseits werden in einer eigenen Arbeitsgruppe umfangreiche *in vitro* Untersuchungen zur Bedeutung von natürlichen Killerzellen für die Tumorabwehr durchgeführt.

Klinische Forschungsschwerpunkte liegen in der Durchführung von Zulassungsstudien zur Erprobung neuer Immunsuppressiva und Antiinfektiva.

### Forschungsprojekte

#### **Ex-vivo Untersuchungen zur Immunologie der diskordanten Xenotransplantation porciner Nieren**

Eine lebensrettende Organtransplantation ist für viele Patienten mit akutem oder chronischem Organversagen die einzige Möglichkeit auf eine Heilung. Aufgrund eines Mangels an Spenderorganen versterben viele Patienten auf der Warteliste für eine Transplantation. Eine mögliche Lösung könnte die Schwein-zu-Mensch Xenotransplantation sein. Diese hätte den Vorteil der unbegrenzten Verfügbarkeit von Spenderorganen. Um eine erfolgreiche Xenotransplantation klinisch realisieren zu können, müssen zunächst die auftretenden Abstoßungsvorgänge überwunden werden(1). Die erste Hürde ist die hyperakute Abstoßung, die innerhalb weniger Stunden nach der Transplantation auftritt und durch präformierte xenoreaktive Antikörper bedingt ist und zu einer Komplement-vermittelten Zerstörung des Transplantats führt. Der nächste auftretende Abstoßungsvorgang ist die akut vaskuläre Abstoßung, die durch induzierte Antikörper ausgelöst wird und mit Endothelschaden im Transplantat, einer systemischen Gerinnungsstörung sowie Inflammation einhergeht. Diese Abstoßung führt letztendlich zu einem Versagen des Transplantats und zum Tod des Empfängers. Die nach Xenotransplantation auftretende xenogene Gerinnungsstörung und die Inflammation sind eigenständige Pathologien, die auch ohne Abstoßung ablaufen können und ebenfalls mit dem Verlust des Transplantats und dem Tod des Empfängers einhergehen.

Die hyperakute Abstoßung kann durch Einsatz von Komplementregulatoren überwunden werden. Diese werden entweder exogen zugeführt als Medikament oder transgen auf dem Transplantat exprimiert. Das verbleibende Problem

der akut vaskulären Abstoßung und der Gerinnungsstörung sowie der Inflammation ist Gegenstand des Projekts C6 im Rahmen des Transregio SFB TRR 127 Xenotransplantation. Um diese Pathologien gezielt untersuchen zu können, hat unsere Arbeitsgruppe ein ex-vivo Perfusionsmodell entwickelt, bei dem Schweinenieren mit menschlichem Blut perfundiert werden. Die auftretenden Abstoßungsvorgänge und die Gerinnungsstörung werden durch Blutuntersuchungen (Gerinnungsfaktoren, Thrombocyten, Antikörper, Komplement, Zytokine) während der Perfusion sowie durch die Untersuchung des Organs nach der Perfusion mittels PCR und (Immun-)histologie quantifiziert.

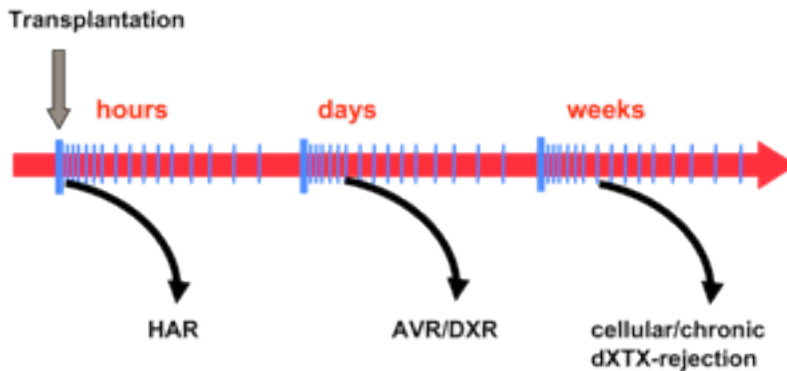


Abb. 1: Abstoßungsvorgänge nach Xenotransplantation

Durch dieses Perfusionsmodell konnte die nach dem Kontakt der Schweineniere mit humanem Blut auftretende xenogene Gerinnungsstörung im Modell abgebildet und charakterisiert werden (2). Die xenogene Gerinnungsstörung ist gekennzeichnet durch einen Anstieg des renovaskulären Widerstands sowie der Gerinnungsparameter D Dimere und Thrombin-Antithrombin Komplexe, während die Gerinnungsfaktoren Fibrinogen und Antithrombin verbraucht werden. Die histologische Untersuchung der perfundierten Nieren zeigte mikrovaskulären Thrombosen.

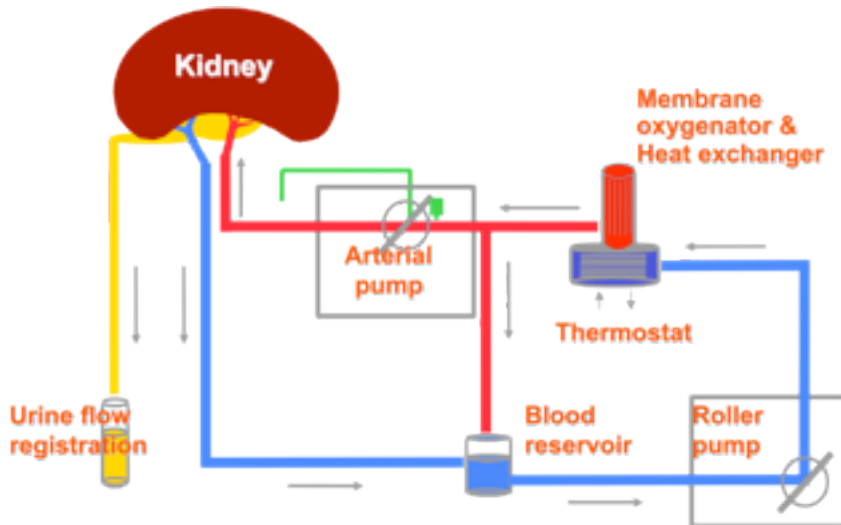


Abb. 2: Ex-vivo Perfusionsmodell

In weiteren Untersuchungen konnte das Auftreten der xenogenen Gerinnungsstörung durch den Einsatz des Gerinnungsinhibitors aktiviertes Protein C (2) und von rekombinantem humanen Antithrombin (3) im Perfusionsmodell verhindert werden. Eine pharmakologische Therapie kommt für eine dauerhafte Behandlung bzw. zur Prophylaxe der xenogenen Gerinnungsstörung nicht in Betracht. Daher wurden im Friedrich-Löffler-Institut in Mariensee transgene Schweine entwickelt, die humane Gerinnungsregulatoren (4) oder transplantatprotektive Faktoren (5) enthalten, und zu einer Verminderung der Abstoßungsvorgänge führen. Die Charakterisierung der nach Xenotransplantation auftretenden Inflammation und die Prophylaxe der Inflammation bzw. deren Behandlung ist das zukünftige Ziel unserer Forschungen.

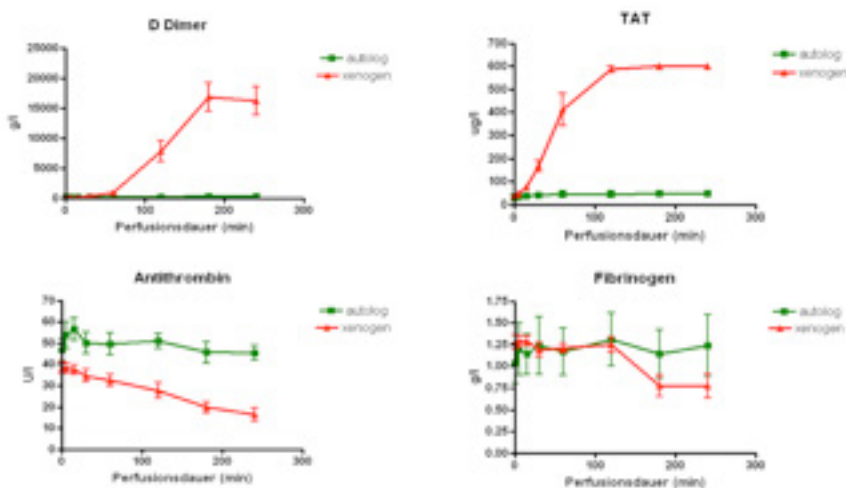


Abb. 3: Analyse der Gerinnungsparameter während der Perfusion

1. Xeno-kidney transplantation: from idea to reality. Ramackers W, Klose J, Winkler M. *Transplant Proc.* 2012 Jul-Aug;44(6):1773-5.
2. Effects of pharmacological intervention on coagulopathy and organ function in xenoperfused kidneys. Ramackers W, Friedrich L, Tiede A, Bergmann S, Schuettler W, Schuerholz T, Mengel M, Goudeva L, Ganser A, Klempnauer J, Piepenbrock S, Winkler M. *Xenotransplantation.* 2008 Feb;15(1):46-55.
3. Recombinant human antithrombin prevents xenogenic activation of hemostasis in a model of pig-to-human kidney transplantation. Ramackers W, Friedrich L, Klose J, Vondran F, Bergmann S, Schüttler W, Johanning K, Werwitzke S, Trummer A, Bröcker V, Klempnauer J, Winkler M, Tiede A. *Xenotransplantation.* 2014 Jul-Aug;21(4):367-75.
4. Pigs transgenic for human thrombomodulin have elevated production of activated protein C. Petersen B, Ramackers W, Tiede A, Lucas-Hahn A, Herrmann D, Barg-Kues B, Schuettler W, Friedrich L, Schwinger R, Winkler M, Niemann H. *Xenotransplantation.* 2009 Nov-Dec;16(6):486-95.
5. Transgenic expression of human heme oxygenase-1 in pigs confers resistance against xenograft rejection during ex vivo perfusion of porcine kidneys. Petersen B, Ramackers W, Lucas-Hahn A, Lemme E, Hassel P, Queisser AL, Herrmann D, Barg-Kues B, Carnwath JW, Klose J, Tiede A, Friedrich L, Baars W, Schwinger R, Winkler M, Niemann H. *Xenotransplantation.* 2011 Nov-Dec;18(6):355-68.

■ Projektleitung: Winkler, Michael (Prof. Dr. med.), Ramackers, Wolf (Dr. med.); Förderung: DFG-Transregio-SFB 127

## Weitere Forschungsprojekte

### Role of regulatory T cells in the development of donor-specific adaptation after clinical organ transplantation

■ Projektleitung: Schwinger, R., Klempnauer, J.; Förderung: DFG, SFB 738, Teilprojekt B1

### Genetic control of xenogeneic immune responses

■ Projektleitung: Schwinzer, R.; Förderung: DFG, SFB-Transregio 127, Teilprojekt A1.

### Reduction of graft antigenicity by perfusion-mediated targeting of antigen presenting cells

■ Projektleitung: Pokoyski, C., Schwinzer, R.; Förderung: BMBF, IFB-Tx II, Teilprojekt OPEX-1.

### Prospektive, randomisierte, kontrollierte, multizentrische Phase III Studie zur schnellen Identifizierung risikoarmer Patienten nach chirurgischer Leberteilresektion durch Anwendung des LiMAX-Tests™

■ Projektleitung: Bektas, Hüseyin (Prof.); Förderung: Humedics GmbH, Berlin

### A Phase 3b, Randomized, Single-Blind, Controlled, Comparative Efficacy and Safety Study of Topical Fibrocap™ (Raplixa™) and Tachosil® in Surgical Hemostasis during Hepatic Resection

■ Projektleitung: Bektas, Hüseyin (Prof.); Förderung: ProFibrix, Leiden, The Netherlands

### Primary Human Hepatocyte Core Facility, TTU Hepatitis

■ Projektleitung: Vondran, F. (Dr. med.), Bock, M. (Dr. rer. nat.), Gastroenterologie; Kooperationspartner: Deutsches Zentrum für Infektionsforschung (DZIF); Förderung: BMBF

### Adjuvante Hepatozytentransplantation nach erweiterter Leberresektion - Etablierung eines präklinischen Tiermodells im Schwein

■ Projektleitung: Vondran, F. (Dr. med.); Förderung: FuLAC / Curatis Pharma

### Originalpublikationen

Alten TA, Negm AA, Voigtländer T, Jaeckel E, Lehner F, Brauner C, Wedemeyer H, Manns MP, Lankisch TO. Safety and performance of liver biopsies in liver transplant recipients. *Clin Transplant* 2014;28(5):585-589

Alter M, Satzger I, Schrem H, Kaltenborn A, Kapp A, Gutzmer R. Non-melanoma skin cancer is reduced after switch of immunosuppression to mTOR-inhibitors in organ transplant recipients. *J Dtsch Dermatol Ges* 2014;12(6):480-488

Bektas H, Nadalin S, Szabo I, Ploder B, Sharkawy M, Schmidt J. Hemostatic efficacy of latest-generation fibrin sealant after hepatic resection: a randomized controlled clinical study. *Langenbecks Arch Surg* 2014;399(7):837-847

Bektas H, Yeyrek C, Kleine M, Vondran FW, Timrott K, Schweitzer N, Vogel A, Jager MD, Schrem H, Klempnauer J, Kousoulas L. Surgical treatment for intrahepatic cholangiocarcinoma in Europe: a single center experience. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2015;22(2):131-137

Bernhardt M, Pflugrad H, Goldbecker A, Barg-Hock H, Knitsch W, Klempnauer J, Strassburg CP, Hecker H, Weissenborn K, Tryc AB. Central Nervous System Complications After Liver Transplantation: Common but Mostly Transient Phenomena. *Liver Transpl* 2015;21(2):224-232

Brauner C, Lankisch TO, Fytilli P, Jaroszewicz J, Lehner F, Barg-Hock H, Klempnauer J, Jaeckel E, Manns MP, Wedemeyer H, Negm AA. Clinical value and safety of liver biopsies in patients transplanted for hepatitis C virus-related end-stage liver disease. *Transpl Infect Dis* 2014;16(6):958-967

Breunig C, Mueller BJ, Umansky L, Wahl K, Hoffmann K, Lehner F, Manns MP, Bantel H, Falk CS. BRAF and MEK inhibitors differentially regulate cell fate and microenvironment in human hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2014;20(9):2410-2423

Budde K, Lehner F, Sommerer C, Reinke P, Arns W, Eisenberger U, Wüthrich RP, Mühlfeld A, Heller K, Porstner M, Veit J, Paulus E, Witzke O, on behalf of the ZEUS Study Investigators. Five-Year Outcomes in Kidney Transplant Patients Converted From Cyclosporine to Everolimus: The Randomized ZEUS Study. *Am J Transplant* 2015;15(1):119-128

Gehring G, Rohrmann K, Atenchong N, Mittler E, Becker S, Dahmann F, Pohlmann S, Vondran FW, David S, Manns MP, Ciesek S, von Hahn T. The clinically approved drugs amiodarone, dronedarone and verapamil inhibit filovirus cell entry. *J Antimicrob Chemother* 2014;69(8):2123-2131

Goldschmidt I, Migal K, Rückert N, van Dick R, Pfister ED, Becker T, Richter N, Lehner F, Baumann U. Personal decision-making processes for living related liver transplantation in children. *Liver Transpl* 2015;21(2):195-203

Gong X, Gao Y, Guo G, Vondran FW, Schwartlander R, Efimova E, Pless G, Sauera IM, Neuhaus P. Effect of matrine on primary human hepatocytes in vitro. *Cytotechnology* 2015;67(2):255-265

Grannas G, Schrem H, Klempnauer J, Lehner F. Ten years experience with belatacept-based immunosuppression after kidney transplantation. *J Clin Med Res* 2014;6(2):98-110

Gronert Alvarez A, Fytilli P, Suneetha P, Kraft AR, Brauner C, Schluë J, Krech T, Lehner F, Meyer-Heithuis C, Jackel E, Klempnauer J,

- Manns MM, Cornberg M, Wedemeyer H. Comprehensive phenotyping of regulatory T cells after liver transplantation. *Liver Transpl* 2015;21(3):381-395
- Jäger MD, Emmanouilidis N, Jackobs S, Kespohl H, Hett J, Musatkin D, Tränkenschuh W, Schrem H, Klempnauer J, Scheumann GF. Presence of small parathyroid glands in renal transplant patients supports less-than-total parathyroidectomy to treat hypercalcemic hyperparathyroidism. *Surgery* 2014;155(1):22-32
- Jörns A, Akin M, Arndt T, Terbish T, Zu Vilsendorf AM, Wedekind D, Hedrich HJ, Lenzen S. Anti-TCR therapy combined with fingolimod for reversal of diabetic hyperglycemia by beta cell regeneration in the LEW.1AR1-iddm rat model of type 1 diabetes. *J Mol Med (Berl)* 2014;92(7):743-755
- Kaltenborn A, Gwiasda J, Amelung V, Krauth C, Lehner F, Braun F, Klempnauer J, Reichert B, Schrem H. Comparable outcome of liver transplantation with Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate vs. University of Wisconsin preservation solution: a retrospective observational double-center trial. *BMC Gastroenterol* 2014;14:169-230X-14-169
- Kleine M, Riemer M, Krech T, DeTemple D, Jäger MD, Lehner F, Manns MP, Klempnauer J, Borlak J, Bektas H, Vondran FW. Explanted diseased livers - a possible source of metabolic competent primary human hepatocytes. *PLoS One* 2014;9(7):e101386
- Kleine M, Worbs T, Schrem H, Vondran FW, Kaltenborn A, Klempnauer J, Förster R, Josenhans C, Suerbaum S, Bektas H. *Helicobacter hepaticus* induces an inflammatory response in primary human hepatocytes. *PLoS One* 2014;9(6):e99713
- Klose J, Klose MA, Metz C, Lehner F, Manns MP, Klempnauer J, Hoppe N, Schrem H, Kaltenborn A. Outcome stagnation of liver transplantation for primary sclerosing cholangitis in the Model for End-Stage Liver Disease era. *Langenbecks Arch Surg* 2014;399(8):1021-1029
- Klose J, Stankov MV, Kleine M, Ramackers W, Panayotova-Dimitrova D, Jäger MD, Klempnauer J, Winkler M, Bektas H, Behrens GM, Vondran FW. Inhibition of autophagic flux by salinomycin results in anti-cancer effect in hepatocellular carcinoma cells. *PLoS One* 2014;9(5):e95970
- Lehner F, Budde K, Zeier M, Wüthrich RP, Reinke P, Eisenberger U, Mühlfeld A, Arns W, Stahl R, Heller K, Witzke O, Wolters HH, Suwelack B, Klehr HU, Stangl M, Hauser IA, Nadalin S, Porstner M, May C, Paulus EM, Sommerer C, the ZEUS Study Investigators. Efficacy and safety of conversion from cyclosporine to everolimus in living-donor kidney transplant recipients: an analysis from the ZEUS study. *Transpl Int* 2014;27(11):1192-1204
- Noyan F, Lieke T, Taubert R, Sievers M, Dywicki J, Hapke M, Falk CS, Manns MP, Jaeckel E, Hardtke-Wolenski M. Naive tumour-specific CD4+ T cells were efficiently primed in acute lyM.P.H.oblastic leukaemia. *Scand J Immunol* 2014;80(3):161-168
- Pflugrad H, Bronzlik P, Raab P, Tryc AB, Goldbecker A, Barg-Hock H, Strassburg CP, Ding X, Lanfermann H, Weissenborn K. Cerebral white matter lesions in patients with liver cirrhosis - causative for hepatic encephalopathy or bystanders? *Liver Int* 2014;DOI: 10.1111/liv.12771
- Pflege-Fleck A, Lieke T, Römermann D, Düvel H, Hundrieser J, Buermann A, Kraus L, Klempnauer J, Schwinzer R. Pig to rat cell transplantation: reduced cellular and antibody responses to xenografts overexpressing PD-L1. *Xenotransplantation* 2014;21(6):533-542
- Ramackers W, Friedrich L, Klose J, Vondran F, Bergmann S, Schüttler W, Johanning K, Werwitzke S, Trummer A, Bröcker V, Klempnauer J, Winkler M, Tiede A. Recombinant human antithrombin prevents xenogenic activation of hemostasis in a model of pig-to-human kidney transplantation. *Xenotransplantation* 2014;21(4):367-375
- Ramackers W, Klose J, Vondran FW, Schrem H, Kaltenborn A, Klempnauer J, Kleine M. Species-specific regulation of fibrinogen synthesis with implications for porcine hepatocyte xenotransplantation. *Xenotransplantation* 2014;21(5):444-453
- Reichart B, Niemann H, Chavakis T, Denner J, Jaeckel E, Ludwig B, Marckmann G, Schnieke A, Schwinzer R, Seissler J, Tonjes RR, Klymiuk N, Wolf E, Bornstein SR. Xenotransplantation of Porcine Islet Cells as a Potential Option for the Treatment of Type 1 Diabetes in the Future. *Horm Metab Res* 2015;47(1):31-35
- Reichert B, Kaltenborn A, Becker T, Schiffer M, Klempnauer J, Schrem H. Massive blood transfusion after the first cut in liver transplantation predicts renal outcome and survival. *Langenbecks Arch Surg* 2014;399(4):429-440
- Riedel G, Rüdric U, Fekete-Drimusz N, Manns MP, Vondran FW, Bock M. An extended DeltaCT-method facilitating normalisation with multiple reference genes suited for quantitative RT-PCR analyses of human hepatocyte-like cells. *PLoS One* 2014;9(3):e93031
- Ringe KI, Meyer S, Ringe BP, Winkler M, Wacker F, Raatschen HJ. Value of oral effervescent powder administration for multidetector CT evaluation of esophageal cancer. *Eur J Radiol* 2015;84(2):215-220
- Schrem H, Kleine M, Lankisch TO, Kaltenborn A, Kousoulas L, Zachau L, Lehner F, Klempnauer J. Long-term results after adult ex situ split liver transplantation since its introduction in 1987. *World J Surg* 2014;38(7):1795-1806
- Schrem H, Platsakis AL, Kaltenborn A, Koch A, Metz C, Barthold M, Krauth C, Amelung V, Braun F, Becker T, Klempnauer J, Reichert B. Value and limitations of the BAR-score for donor allocation in liver transplantation. *Langenbecks Arch Surg* 2014;399(8):1011-1019
- Seibert FS, Steltzer J, Mellili E, Grannas G, Pagonas N, Bauer F, Zidek W, Grinyo J, Westhoff TH. Differential impact of belatacept and cyclosporine A on central aortic blood pressure and arterial stiffness after renal transplantation. *Clin Transplant* 2014;28(9):1004-1009
- Sterneck M, Kaiser GM, Heyne N, Richter N, Rauchfuss F, Pascher A, Schemmer P, Fischer L, Klein CG, Nadalin S, Lehner F, Settmacher U, Neuhaus P, Gotthardt D, Loss M, Ladenburger S, Paulus EM, Mertens M, Schlitt HJ. Everolimus and early calcineurin inhibitor withdrawal: 3-year results from a randomized trial in liver trans-

plantation. Am J Transplant 2014;14(3):701-710

Timrott K, Vondran FW, Kleine M, Warnecke G, Haverich A, Lehner F, Klempnauer J. The impact of abdominal complications on the outcome after thoracic transplantation-a single center experience. Langenbecks Arch Surg 2014;399(6):789-793

Tryc AB, Pflugrad H, Goldbecker A, Barg-Hock H, Strassburg CP, Hecker H, Weissenborn K. New-onset cognitive dysfunction impairs the quality of life in patients after liver transplantation. Liver Transpl 2014;20(7):807-814

Tsikas D, Frölich JC, Klempnauer J, Becker T. Nitrosative stress does not change during orthotopic liver transplantation. Liver Transpl 2014;20(6):744-745

Vondran FW, Timrott K, Kollrich S, Steinhoff AK, Kaltenborn A, Schrem H, Klempnauer J, Lehner F, Schwinzer R. Pre-transplant immune state defined by serum markers and alloreactivity predicts acute rejection after living donor kidney transplantation. Clin Transplant 2014;28(9):968-979

### Abstracts

2014 wurden 50 Abstracts publiziert.

### Promotionen

Kurok, Marlene (Dr. med.): Inzidenz und Langzeitrisiko für de novo Malignome nach Lebertransplantation mit Implikationen für Prävention und Detektion.