

AUS DER ABTEILUNG
FÜR NEPHROLOGIE
ABTEILUNGSLEITER: PROF. DR. BERNHARD BANAS
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**DIE INTERAKTION VON B-ZELL-PROLIFERATIONSFAKTOREN
MIT DEM MUSTER IMMIGRIERENDER ZELLPOPULATIONEN
IM KONTEXT AKUTER UND CHRONISCHER
TRANSPLANTATVERÄNDERUNGEN**

Inaugural – Dissertation zur
Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Claudia Christoph

2022

AUS DER ABTEILUNG
FÜR NEPHROLOGIE
ABTEILUNGSLEITER: PROF. DR. BERNHARD BANAS
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**DIE INTERAKTION VON B-ZELL-PROLIFERATIONSFAKTOREN
MIT DEM MUSTER IMMIGRIERENDER ZELLPOPULATIONEN
IM KONTEXT AKUTER UND CHRONISCHER
TRANSPLANTATVERÄNDERUNGEN**

Inaugural – Dissertation zur
Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Claudia Christoph

2022

Dekan: Prof. Dr. Dirk Hellwig
1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Tobias Bergler
2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Jens Werner
Tag der mündlichen Prüfung: 23.09.2022

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	5
1.1	Nierentransplantation	5
1.2	Immunabwehr	6
1.2.1	Angeborene Immunabwehr	7
1.2.2	Adaptive Immunabwehr	8
1.3	TNF-/TNFR-Superfamilie	14
1.3.1	BAFF	15
1.3.2	APRIL	19
1.4	Abstoßungsreaktionen	21
1.4.1	Perakute/Hyperakute Abstoßung	21
1.4.2	Akute Abstoßung	22
1.4.3	Chronische Abstoßung	23
1.5	Transplantationsimmunologie	24
1.5.1	Donor-spezifische Antikörper	24
1.5.2	HLA-Typisierung/HLA-(Mis)Match	25
1.5.3	HLA-Antikörpersuche	26
1.5.4	Crossmatch/Kreuzprobe	27
1.5.5	Immunsuppression	28
2	Zielsetzung und Aufbau der Arbeit	32
3	Material und Methoden	34
3.1	Patientenkollektiv	34
3.2	Beobachtungszeitraum	34
3.3	Histologie	35
3.4	Immunhistochemie	36
3.5	Antikörperdetektion	38
3.6	Auswertung	40
4	Ergebnisse	43
4.1	Charakteristika der Studienpopulation	43
4.1.1	Kohortenstratifizierung	43
4.1.2	Spenderdaten	43
4.1.3	Empfängerdaten	45
4.1.4	Transplantationsbedingungen	46

4.1.5	Nachbeobachtungszeitraum	48
4.2	Infiltrierende Zellen	49
4.2.1	Makrophagen (CD68 ⁺ -Zellen)	50
4.2.2	T-Lymphozyten (CD3 ⁺ -Zellen)	50
4.2.3	B-Lymphozyten (CD20 ⁺ -Zellen)	51
4.2.4	Plasmazellen (CD138 ⁺ -Zellen)	51
4.3	Vergleich infiltrierender Zellen	53
4.3.1	B-Zell-/Makrophagenverhältnis	54
4.3.2	B-Zell-/T-Zellverhältnis	54
4.3.3	B-Zell-/Plasmazellverhältnis	55
4.4	Verteilung der HLA-Mismatches	57
4.5	Vorimmunisierungen	59
4.6	Auftreten von Donor-spezifischen Antikörpern	64
4.7	Transplantatüberleben	67
4.8	Transplantatfunktion	71
4.9	Intrarenale BAFF-Expression	74
4.10	Intrarenale APRIL-Expression	79
5	Diskussion	86
6	Zusammenfassung	91
	Literaturverzeichnis	94
	Abbildungsverzeichnis	115

1 Einleitung

1.1 Nierentransplantation

Für dialysepflichtige Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz bietet die Nierentransplantation eine effektive, anerkannte und zuverlässige Behandlungsoption, welche mit einer signifikanten Verbesserung des Patientenüberlebens und der Lebensqualität verbunden ist. Auf lange Sicht ist auch der sozioökonomische Aspekt zu beachten, da eine regelmäßige Dialysebehandlung nicht nur sehr zeitintensiv für die Patienten, sondern auch sehr kostenintensiv für die Kostenträger ist.

In der Transplantationsmedizin wird der Immunantwort gegen die Alloreaktivität des Spenders große Beachtung gewidmet, da diese für eine erfolgreiche Transplantation ausschlaggebend ist. Kann die Immunantwort nicht ausreichend kontrolliert werden, sind die Kosten, Krankheitsraten und Zahlen der Todesfälle trotz effektivem Therapiekonzept deutlich erhöht [1]. Zu den grundlegenden Voraussetzungen einer arrivierten Nierentransplantation zählen auf medizinischer Seite: patientenindividuelle, immunsuppressive Therapiekonzepte, welche optimal auf das jeweilige persönliche (nicht-) immunologische Risikoprofil des Patienten abgestimmt sind, sowie ein gewissenhaftes und engmaschiges Nachsorgekonzept. Seitens der zu behandelnden Patienten ist eine gute Adhärenz obligat.

In circa 60 Jahren seit der ersten, dauerhaft arrivierten Nierentransplantation, sind rasante Fortschritte sowohl in der Optimierung und Weiterentwicklung immunsuppressiver Therapien, als auch im Posttransplantationsmanagement zu verzeichnen. Hierdurch konnten insbesondere die Abundanz und der Schweregrad von akuten T-Zell-vermittelten Abstoßungen signifikant reduziert werden. Jedoch betreffen diese Erfolge hauptsächlich die kurzfristigen Ergebnisse (1-Jahres-Transplantat-Überlebensraten), nicht jedoch die Langzeitresultate [2, 3]. Der Grund hierfür dürfte vor allem in der späten Antikörper-vermittelten Abstoßung (ABMR; antibody mediated rejection) und der chronisch-aktiven Antikörper-vermittelten Abstoßung (cABMR; chronic antibody mediated rejection) liegen. In den vergangenen Jahren wurde zunehmend klarer, dass neben nicht-immunologischen Faktoren wie medikamentöse Nebenwirkungen, Ischämie-Reperfusion-Verletzungen und ein kardiovaskuläres Risikoprofil, vor allem anhaltende, subakute und inflammatorische Prozesse einen signifikanten Einfluss auf die zunehmenden Funktionsbeeinträchtigungen und Funktionsverluste transplantierte Organe haben [4]. Ebenfalls erkennbar, ist ein Zusammenhang zwischen chronischen Entzündungsmechanismen, dem Vor-

handensein von de novo Donor-spezifischen Antikörpern (dnDSA; de novo donor specific antibodies) und vorzeitig auftretenden Transplantatverlusten [5].

Histologisch lassen sich charakteristische Merkmale einer chronischen Zerstörung des Nierentransplantatgewebes identifizieren. Dazu gehören: interstitielle Fibrose/tubuläre Atrophie (IFTA), Vaskulopathie und Glomerulopathie [6, 7]. Immer mehr Aufmerksamkeit sollte daher besonders dem humoralen Anteil des Immunsystems gewidmet werden, welcher durch gezielte Therapiekonzepte suffizient kontrolliert werden könnte, um einen langen Erhalt der Transplantatfunktion zu ermöglichen [8, 9].

Obwohl seitens der Medizin immer mehr Diagnostik betrieben wird, wie die Bestimmung von Donor-spezifischen Antikörpern (DSA; donor specific antibodies), die Verwendung charakteristischer histopathologischer Einteilungen und im experimentellen Setting: die Anwendung spezieller molekularer Mikroskope, fehlt es noch immer vornehmlich an dazugehörigen, effektiven Therapiekonzepten [10]. Natürlich sind auch Misserfolge in erwarteten Therapiekonzepten zu verzeichnen [11] und andere, bereits bestehende, sollten primär erneut bewertet werden [12]. Eindeutig fehlen in erster Linie wirksame und aktuelle Biomarker/Instrumente, um die cABMR vorhersagen zu können. Fügt man abschließend den Aspekt hinzu, dass es sich bei Spendernieren um mangelnde Transplantationsorgane handelt, wird die Dringlichkeit präventiver Ansätze und spezieller Behandlungsschemata besonders deutlich. Eine Identifizierung, Veränderung oder Unterdrückung der ursächlichen immunologischen Mechanismen sollte daher höchste Priorität haben, um eine Verbesserung der langfristigen Transplantationsergebnisse erzielen zu können [13].

1.2 Immunabwehr

Die Immunabwehr dient dem Schutz des Körpers vor Antigenen. Antigene sind körperfremde Organismen/Substanzen, welche in der Lage sind, die Körperzellen zu schädigen. Zu der Hauptaufgabe des Immunsystems zählen die Antigenerkennung und -eliminierung.

Aufbau des Immunsystems

Das Immunsystem besteht aus dem angeborenen (ungeprägten, natürlichen, unspezifischen) und aus dem erworbenen (adaptiven, geprägten, spezifischen) Abwehrsystem. Letzteres beinhaltet sowohl eine zelluläre, als auch eine humorale Komponente. Die fundamentale Immunreaktion eines jeden Organismus bildet dabei die angeborene Immunabwehr, welche innerhalb weniger Minuten bis Stunden aktiv wird. Die adaptive Immunabwehr hingegen, entwickelt sich mit einer gewissen zeitlichen Verzögerung und zeichnet sich dafür durch eine hohe Spezifität und Effektivität aus [14].

1.2.1 Angeborene Immunabwehr

Das angeborene Abwehrsystem richtet sich gegen körperfremde Strukturen und Substanzen und ist von Geburt an vorhanden und sofort einsatzbereit. Zu den zellulären Komponenten zählen: Granulozyten, Monozyten/Makrophagen, Mastzellen und die natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) und zu den humoralen Komponenten: Zytokine, Akute-Phase-Proteine, Lysozym und das Komplementsystem.

Makrophagen

Das angeborene Immunsystem wird aktiv, sobald ein Pathogen die chemisch-physikalische Barriere des Körpers überwindet. Zu den ersten aktivierten Zellen zählen phagozytierende Leukozyten: Makrophagen, Granulozyten und dendritische Zellen [14]. Monozyten/Makrophagen machen etwa 4-10% der Blutleukozyten aus und bilden das mononukleäre Phagozytensystem. Wenige Tage nach ihrer Zirkulation im Blut wandern die Monozyten in das umliegende Gewebe ein. Unter dem Einfluss von Zytokinen, Zell-Zell-Kontakten und Bestandteilen von Mikroorganismen kommt es zu einer Differenzierung: ortsständige Makrophagen entstehen. Charakterisiert werden die Makrophagen durch die Expression des Oberflächenmoleküls CD68 (CD; cluster of differentiation).

Anhand pathogenassoziiierter, molekularer Muster (PAMPs; pathogen-associated molecular patterns), welche zahlreiche Krankheitserreger aufweisen, erfolgt die Pathogenerkennung. Eine Bindung der PAMPs von den Mustererkennungsrezeptoren (PRR; pattern recognition receptors) der Phagozyten, führt zu einer Aktivierung der Zellen [15]. Die Eliminierung der Pathogene erfolgt anschließend durch die aktivierten Zellen mithilfe von Phagozytose. Zusätzlich werden Chemokine und Interferone sezerniert, wodurch neben direkten Zellinteraktionen, die Aktivierung der adaptiven Immunantwort erfolgt [16].

Zusammengefasst zählen zu den Hauptaufgaben des mononukleären Phagozytensystems: die Oberflächenerkennung pathogener Mikroorganismen, die Abtötung und Phagozytose von Mikroorganismen, die Unterstützung lokaler Entzündungen durch Zytokinfreisetzung und die Aktivierung von T-Helferzellen (TH-Zellen) durch Antigenpräsentation. Somit wird deutlich, dass Makrophagen eine wichtige Verbindung zwischen dem angeborenen und erworbenen Abwehrsystem bilden [17].

Natürliche Killerzellen

Durch die Signalproteine der Phagozyten werden die NK-Zellen, welche eine weitere Komponente des angeborenen Immunsystems bilden, aktiviert [18]. Sie dienen der Erkennung virusinfizierter und mutierter Zellen und führen durch eine Freisetzung zytotoxischer Granula zu einer Induktion des programmierten Zelltods (Apoptose) der Zielzelle [19]. Damit ist eine Eindämmung von Virusinfektionen und eine Abtötung von Tumorzellen ohne vorherige Sensibilisierung möglich [20].

Die NK-Zellen sind in der Lage, immunregulatorische Zytokine wie Interferon- γ (IFN- γ) und Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) zu sezernieren und damit die antikörperabhängige, zellvermittelte Zytotoxizität (ADCC; antibody dependent cellular cytotoxicity) zu vermitteln. Charakterisiert werden natürliche Killerzellen durch das Vorhandensein eines T-Zell-Rezeptors (TCR; T-cell receptor) und der Expression der Oberflächenmoleküle CD56 und CD16 [21].

1.2.2 Adaptive Immunabwehr

Sobald ein Pathogen in der Lage ist, die angeborene Immunabwehr zu überwinden, findet eine Aktivierung des adaptiven/erworbenen Immunsystems im Rahmen der gemeinsamen Abwehr statt. Diese entwickelt sich deutlich langsamer, weist aber eine höhere Spezifität auf. Infektionen und immunologische Prozesse können effektiver bekämpft werden. Zu den zellulären Komponenten zählen: B-Lymphozyten (die Begriffe B-Lymphozyten und B-Zellen werden in dieser Arbeit synonym verwendet) und T-Lymphozyten (die Begriffe T-Lymphozyten und T-Zellen werden in dieser Arbeit synonym verwendet) als Effektorzellen und als humorale Komponenten: Antikörper und Zytokine [17, 19].

Lymphozyten

Lymphozyten zählen zu den zellulären Blutbestandteilen des Immunsystems. Zu den funktionell 3 wichtigsten Vertretern der reifen Lymphozyten gehören die B- und T-Lymphozyten, sowie die NK-Zellen. Jeder Lymphozyt ist in der Lage ein einzelnes Antigen spezifisch zu erkennen, indem er eine sehr charakteristische Variante eines Antigenrezeptorprototyps auf seiner Zelloberfläche trägt, um mithilfe humoraler und zellvermittelter Mechanismen auf diese zu reagieren [14, 22]. Mithilfe somatischer Rekombinationen kann eine Lymphozytenpopulation unendlich viele Rezeptorvarianten ausbilden, wodurch unendlich viele Antigene erkannt werden können [23]. Tritt ein Lymphozyt in Kontakt mit einem Antigen, kommt es zu einer Differenzierung zu einem funktionell reifen T-Lymphozyten. Dieser Reifungsvorgang kann bis zu vier Tage in Anspruch nehmen.

Ist ein erfolgreicher Ablauf der adaptiven Immunantwort erfolgt, wurde das Pathogen beseitigt, stellt die Ausbildung eines immunologischen Gedächtnisses die wichtigste Konsequenz daraus dar. Ein gewisser Anteil der aktivierten B-Lymphozyten geht nicht aufgrund apoptotischer Vorgänge zugrunde, sondern entwickelt sich zu Gedächtniszellen. Sollte es erneut zu einem Kontakt mit dem spezifischen Antigen kommen, erfolgt eine signifikant schnellere Differenzierung der Gedächtniszellen zu Effektorlymphozyten. Somit wird eine zeitnahe Reaktion bei einer Zweitinfektion mit dem Pathogen gewährleistet [14].

T-Lymphozyten

T-Lymphozyten sind charakterisiert durch die Expression des Oberflächenmoleküls CD3, sie bilden die zellvermittelte Komponente der adaptiven Immunabwehr und erlangen ihre immunologische Kompetenz im Thymus [22].

Aufgrund verschiedener Funktionen und Zelloberflächenproteine, welche T-Lymphozyten während ihrer Entwicklung erhalten, lassen sie sich in zwei Hauptklassen unterteilen: $CD4^+$ TH-Zellen und zytotoxische $CD8^+$ T-Killerzellen. Eine weitere Art stellen die regulatorischen T-Zellen (Tregs) dar [24].

T-Lymphozyten sind nur in der Lage ein spezifisches Antigen zu erkennen, wenn dieses gebunden an der Oberfläche eines Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC; major histocompatibility complex) von Antigen-präsentierenden Zellen (APCs; antigen presenting cells) dargestellt wird. MHC-Moleküle werden bei den Menschen auch als humane Leukozytenantigene (HLA; human leucocyte antigen) bezeichnet, können als Multi-Protein-Komplexe angesehen werden und stammen aus dem rauen endoplasmatischen Retikulum, wo eine permanente Synthese dieser polymorphen Glykoproteine stattfindet. Sie präsentieren dem Immunsystem Peptidfragmente der Zellumgebung. Zwei sich strukturell ähnelnde aber in unterschiedlichen Geweben exprimierte Arten von MHC-Molekülen lassen sich hierbei unterscheiden: MHC-I- und MHC-II-Moleküle. MHC-I-Moleküle sind auf fast allen kernhaltigen Zellen und Thrombozyten lokalisiert und dienen der Präsentation von Antigenen, welche durch Proteinabbau im Zytosol der Zelle entstehen. Zytotoxische $CD8^+$ T-Killerzellen sind hierbei die Zielzellen der Antigenpräsentation. MHC-II-Moleküle hingegen, befinden sich ausschließlich auf dendritischen Zellen (APCs) und präsentieren den $CD4^+$ TH-Zellen von extrazellulär aufgenommene und in Vesikeln prozessierte Antigenfragmente. Nur mithilfe der Korezeptoren CD4 und CD8 kann eine effektive Bindung zwischen TCR und Peptid-MHC-Komplex entstehen, wodurch es zu einer Aktivierung des TCRs kommt [14, 25]. An dem Ort des Zellkontakts bildet sich eine immunologische Synapse durch die Aggregation des TCRs, der Korezeptoren und weiterer Zelloberflächenmoleküle aus. Es kommt zu einer Polarisierung des Zytoskeletts des T-Lymphozyten, wodurch ausschließlich an der Kontaktstelle mit der Zielzelle eine Sezernierung von Effektormolekülen erfolgt [14]. Weitere Signale, wie kostimulierende Zellkontakte und freigesetzte Zytokine der APCs sind notwendig, um den T-Lymphozyten endgültig zu aktivieren [26]. Ist der T-Lymphozyt vollständig aktiviert, führt das zu einer Proliferation und Differenzierung der verschiedenen Effektor-T-Zellen. Die zytotoxischen $CD8^+$ T-Killerzellen dienen der Eliminierung virusinfizierter oder pathologisch entarteter Zellen. $CD4^+$ T-Helferzellen entwickeln sich, abhängig von den zuvor sezernierten Zytokinen, in verschiedene Effektorzellen (TH1-, TH2-, TH17-Zellen, Tregs). Diese sind in der Lage, weitere Zellen zu aktivieren oder zu regulieren [27, 28].

Letztlich bestimmen MHC-Moleküle im Wesentlichen die Verträglichkeit/Histokompatibilität eines allogenen Transplantats [14, 17, 29, 30].

Zytotoxische T-Lymphozyten

Durch das Freisetzen zytotoxischer Granula an dem Ort der entstandenen immunologischen Synapse sind $CD8^+$ T-Killerzellen dazu in der Lage, ihre Zielzelle abzutöten. Freigesetzt werden unter anderem Stoffe, welche in der Zielzelle eine Apoptoseinduktion bewirken. Dazu zählen Granzyme, Perforin, Granulysin und der Fas-Ligand. Auch $IFN-\gamma$ oder $TNF-\alpha$ werden freigesetzt [14, 27, 31].

Nach abgelaufener Immunreaktion kommt es bei 5-10% der zytotoxischen Effektor-T-Zellen zu einer Entwicklung von $CD8^+$ T-Gedächtniszellen. Die restlichen 90-95% sterben durch apoptotische Prozesse ab [32].

T-Helferzellen

Um eine Differenzierung der naiven $CD4^+$ TH-Zellen (TH0-Zellen) zu verschiedenen Effektorzelltypen auszulösen, werden verschiedene Zytokine benötigt, welche von den APCs sezerniert werden. Eine Entwicklung zu TH1-Zellen erfolgt, wenn vornehmlich $IFN-\gamma$ und Interleukin 12 (IL12) sezerniert werden. TH1-Zellen sezernieren ebenfalls $IFN-\gamma$, zum Teil auch $TNF-\alpha$, Granulozyten-Makrophagen-Koloniestimulierender-Faktor (GM-CSF; granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) und CD4-Ligand. Neben der Aktivierung von Makrophagen, sorgen die TH1-Zellen für eine effektive Bekämpfung intrazellulär vorkommender Mikroorganismen durch eine Stärkung der zellulären Immunantwort und tragen zu einer Koordination der B-Lymphozyten-Aktivität bei. Des Weiteren sind sie an der Hemmung der TH2-Antwort beteiligt. Allgemein ist dieser TH-Zelltyp vornehmlich an Entzündungsreaktionen beteiligt.

Erfolgt von den APCs vornehmlich eine Sezernierung von IL4, entwickeln sich TH2-Zellen. Diese sind in der Lage, B-Lymphozyten zu aktivieren und den Isotypenwechsel anzuregen, indem sie Effektormoleküle wie IL4, IL5, IL13, CD40-Ligand und GM-CSF sezernieren. Sie fördern die Antikörpersynthese und hemmen die TH1-Antwort. Damit wird deutlich, dass dieser TH-Zelltyp eine wichtige Rolle bei der Induktion der humoralen Immunantwort, bei der Abwehr extrazellulärer Parasiten und bei der Entwicklung von Allergien spielt [14, 33–35].

TH17-Zellen entstehen, wenn IL6 und transformierender Wachstumsfaktor ($TGF-\beta$; transforming growth factor β) das Zytokinmuster bei der T-Zell-Aktivierung prägen. Das geschieht vornehmlich in der frühen Phase einer Immunantwort, welche sich gegen extrazellulär vorkommende Mikroorganismen (Pilze, Bakterien) richtet. Mit der Produktion von IL17, IL22 und IL6 ermöglichen TH17-Zellen eine Förderung akuter Entzündungen durch das Rekrutieren von neutrophilen Granulozyten. Sie sind aber vor allem an chronisch-latenten Immunreaktionen beteiligt [33, 36].

Wurde der Erreger eliminiert, geht die Mehrheit der pathogenspezifischen T-Zell-Population durch apoptotische Prozesse zugrunde und nur ein kleiner Anteil bleibt als T-Gedächtniszellen erhalten. Diese können bei erneuter Reizeinwirkung durch

das spezifische Antigen reaktiviert werden und deutlich schneller und effektiver reagieren, sodass eine erneute Erkrankung daran verhindert werden kann [14].

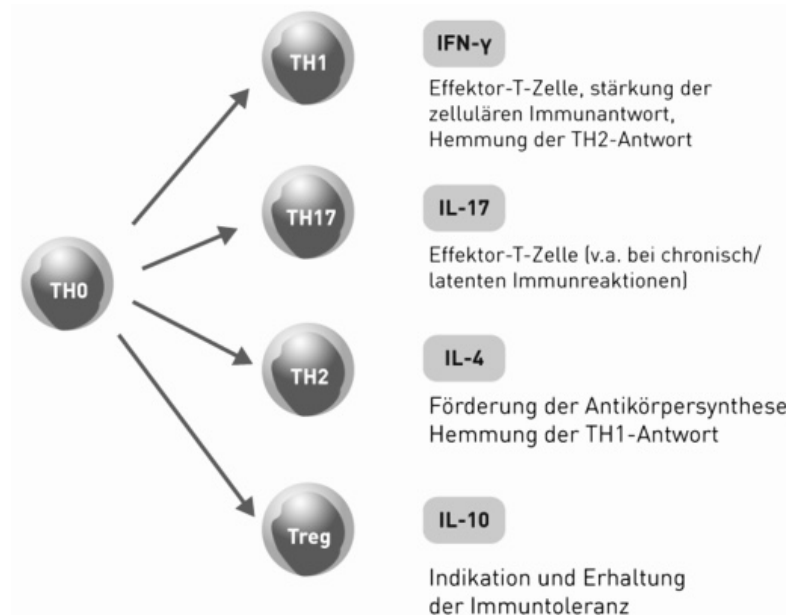


Abbildung 1.1: T-Helferzelltypen

Vereinfachtes Schema zur Darstellung der einzelnen T-Helferzelltypen und ihre Wirkung über die jeweiligen ausgesendeten Zytokine.

TH-Zelle: T-Helferzelle; IL: Interleukin; IFN: Interferon; Treg: regulatorische T-Zelle [37]

Regulatorische T-Zellen

Tregs dienen der Unterdrückung von Immunreaktionen und sind vor allem an der Entwicklung von Autoimmunerkrankungen beteiligt. Sie erhalten ihre Immuntoleranz durch die Sezernierung von IL10 und können anhand ihres Ursprungs unterschieden werden: es gibt natürliche und adaptive Tregs [38–40].

Die natürlichen Tregs ($CD4^+$, $CD25^+$) erhalten ihre regulatorische Funktion bereits während sie sich im Thymus entwickeln. Peripher findet ihre Ausdifferenzierung unter dem Einfluss von $TGF-\beta$ statt. Sie exprimieren das Forkhead-Box-Protein P3 (FoxP3) [38, 41–43]. Die Entwicklung der adaptiven Tregs findet peripher unter dem Einfluss von IL10 aus noch ungeprägten, naiven $CD4^+$ TH-Zellen statt [14, 40].

Bei den Funktionen der natürlichen und adaptiven Tregs kommt es zu Überschneidungen und Ergänzungen. Aufgrund verschiedener Mechanismen entstehen suppressive Auswirkungen. Zu ihren Aufgaben zählen die Sezernierung inhibitorischer Zytokine (IL35, IL10 und $TGF-\beta$) und Granzyme, mit welchen sie ihre Zielzelle direkt zytolytisch abtöten können [44–46]. Sie sind außerdem in der Lage, im teilweise

direkten Zellkontakt die Funktion der APCs zu modulieren und durch eine gesteigerte CD25-Expression (ein Bestandteil des IL2-Rezeptors) eine Konkurrenz um IL2 mit den Effektor-T-Zellen einzugehen, was zu einer Inhibition der Aktivierung und Proliferation der Effektor-T-Zellen führt [14, 44, 47].

Die Abbildung 1.1 stellt vereinfacht die einzelnen TH-Zelltypen und ihre Wirkung über die spezifischen Zytokine dar.

B-Lymphozyten/Plasmazellen

B-Lymphozyten reifen beim Erwachsenen im Knochenmark aus hämatopoetischen Stammzellen heran. Mit etwa 5-15% aller Lymphozyten zählen sie zu den wichtigsten Vertretern der adaptiven Immunität. Durch ihre regulatorischen Funktionen sind sie als Vermittler der humoralen Immunantwort und als Antikörper-produzierende Zellen bekannt [48].

Antikörper/Immunglobuline sind gegen ein spezifisches Antigen gerichtet und erkennen und binden dieses. Ein Antikörper weist optisch die Form eines Ypsilon (Y) auf und besteht aus zwei Regionen: einer variablen und für jeden Antikörper spezifischen Region, welche die Antigene binden kann (V-Region/Antigenbindungsstelle) und aus einer konstanten C-Region, welche in 5 Hauptgruppen unterteilt werden kann: IgG, IgM, IgA, IgD & IgE. Jede dieser 5 Gruppen übt dabei eine andere Effektorfunktion aus. Beispielsweise ist der IgM Antikörper der erste, welcher nach Antigenkontakt gebildet wird. Aufgrund verschiedener Mechanismen, wie den Immunglobulinklassenwechsel, ist die Vielfalt nahezu unendlich. Zu den wichtigsten Funktionen der Antikörper zählen: die Virus- und Bakterienabwehr, die Toxin-Neutralisierung, die Komplementkaskaden-Aktivierung und das Erleichtern der Phagozytose eines Erregers durch Opsonierung.

Gemeinsam mit anderen Untereinheiten bilden membranständige Immunglobuline den B-Zell-Rezeptor (BCR; B-cell receptor). Die Spezifität dieses Rezeptors entsteht durch die somatische Rekombination, bei welcher es zu zufälligen Umlagerungen der vielen Ig-Gensegmente kommt. Alle Immunglobuline weisen die gleiche Spezifität wie der membrangebundene BCR auf. Über mehrere Differenzierungsschritte entstehen reife B-Lymphozyten mit einem funktionierenden, nicht selbstreaktiven BCR auf der Zelloberfläche [49–51]. Vornehmlich im frühen Entwicklungsabschnitt bestimmen die Schritte der somatischen Rekombination die einzelnen B-Zell-Stadien. Beginnend bei der Pro-B-Zelle entsteht über Zwischenschritte die unreife B-Zelle, welche erstmals ein IgM-Molekül als BCR auf ihrer Zelloberfläche trägt. Dieser Antigenrezeptor wird nun auf Selbsttoleranz überprüft. Hierbei werden die B-Lymphozyten körpereigenen Antigenen ausgesetzt. Es kommt zu einer sofortigen Apoptose, falls sie diese fälschlicherweise erkennen sollten. So gehen im Laufe ihrer Entwicklung circa 75% durch diesen programmierten Zelltod zugrunde [14, 17]. Die überlebenden 25% sind die naiven, unreifen B-Lymphozyten. Diese verlassen das Knochenmark und werden nachfolgend als Transitional B-Zellen (TB-Zellen) bezeichnet. Diese

Übergangsform wandert in die Milz ein, ist aber nur sehr kurzlebig. Es folgt ein weiterer genetischer Umbau, woraufhin die TB-Zellen zusätzlich zu IgM auch IgD exprimieren. Abhängig von der Dichte dieser exprimierten Oberflächenimmunglobuline, lassen sie sich in die Transitional 1 B-Zellen (T1 B-Zellen), welche weniger IgD exprimieren, und in die Transitional 2 B-Zellen (T2 B-Zellen) unterscheiden. Sowohl T1 als auch T2 B-Zellen zeigen jedoch eine erhöhte Expression von IgM und tragen das Oberflächenmolekül CD20. Eine Weiterentwicklung zu naiven, reifen B-Lymphozyten, welche ebenfalls CD20 exprimieren, erfolgt mithilfe bestimmter Signale über den BCR und den B-Zell-Aktivierungsfaktor-Rezeptor (BAFF-R; B-cell activating factor receptor) [52–56]. Im naiven, reifen und inaktiven Zustand der B-Lymphozyten findet eine permanente Zirkulation zwischen dem Blut und den lymphatischen Organen statt. In den Lymphknoten oder in der Milz, welche zu den sekundär lymphatischen Organen zählen, erfolgt die Antigenerkennung und B-Zell-Aktivierung. Erst daraufhin ist der B-Lymphozyt in der Lage, sich entweder zu einer frühen Antikörper-produzierenden Plasmazelle (IgM), zu einer Gedächtniszelle (Memory-B-Zelle) oder zu einer langlebigen Plasmazelle zu entwickeln. Im Zuge dessen verlieren die meisten B-Lymphozyten ihr CD20 Oberflächenmolekül [14, 54, 57–59].

Plasmazellen haben die höchste Differenzierung erreicht. Sie sind als finale Effektorzellen nicht mehr weiter teilungsfähig und dienen der Sezernierung von Antikörpern, welche der akuten Beseitigung von Pathogenen dienen. Der größte Anteil der Plasmazellen stirbt wenige Wochen nach der Pathogenbekämpfung ab. Der kleinere Anteil, welchen die langlebigen Plasmazellen bilden, lässt sich in Knochenmarksnischen nieder. Von dort aus werden weiterhin hochaffine Antikörper produziert. Damit wird gewährleistet, dass auch ein nachhaltiger Schutz gegen spezifische Pathogene vorhanden ist [60]. Die Gedächtniszellen dienen der Speicherung der Antigeninformation und tragen dazu bei, dass bei einem erneuten Antigenkontakt eine schnellere Immunantwort ablaufen kann. Folglich würde eine Vermehrung und Ausdifferenzierung zu Plasmazellen, sowie eine Antikörperproduktion in kürzester Zeit erfolgen. Kommt es während diesem Zweitkontakt mit dem spezifischen Antigen zu einem Antikörper-Klassenwechsel, werden die B-Lymphozyten als Switched B-Gedächtniszellen bezeichnet [19, 61–63].

Die Abbildung 1.2 veranschaulicht die unterschiedlichen Entwicklungsstadien und Subtypen der B-Lymphozyten mit ihren spezifischen Oberflächenmarkern.

Fast alle Reaktionen der B-Lymphozyten, wie die effiziente Antikörperproduktion, sind abhängig von T-Lymphozyten. Dafür phagozytiert der B-Lymphozyt ein gebundenes Antigen und präsentiert dessen lysierte Bestandteile über die MHC-II-Moleküle auf seiner Zelloberfläche. Dieser exprimierte Komplex kann von einer passenden TH-Zelle erkannt und gebunden werden, welche folglich Zytokine produziert und aussendet. Die Zytokine führen dann zu einer Aktivierung des B-Lymphozyten und es kommt zu einer Proliferation und Differenzierung [14, 57, 64, 65].

Auch eine T-Zell unabhängige B-Zell-Aktivierung ist möglich. Diese ist jedoch nur

relativ schwach ausgeprägt und wird direkt durch die Bindung des Antigens an den BCR erzeugt.

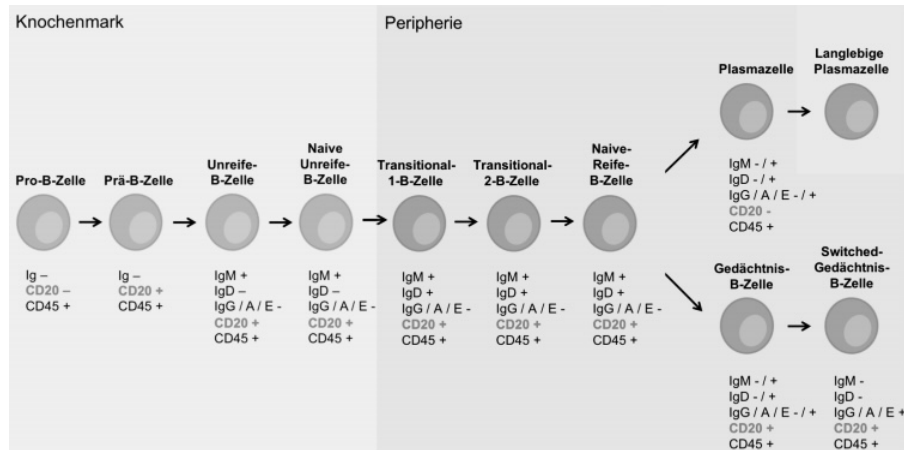


Abbildung 1.2: B-Zell-Entwicklung

Vereinfachtes Schema für die Darstellung der B-Zell-Entwicklung mit spezifischen Oberflächenmolekülen der einzelnen Subtypen.

+ : Marker wird exprimiert; - : Marker wird nicht exprimiert; - / + : Marker kann, aber muss nicht exprimiert werden, CD: cluster of differentiation, Ig: Immunglobulin [66]

Regulatorische B-Lymphozyten

Auch bei den B-Lymphozyten gibt es regulatorische Zellpopulationen: die Bregs. Sie beeinflussen das Immunsystem, indem sie Zytokine sezernieren. Sie exprimieren IL10, wodurch eine Inhibition proinflammatorischer Prozesse erfolgt und eine Förderung der Treg-Produktion induziert wird. Es ist bekannt, dass die regulatorischen B-Lymphozyten auch an der Inhibition von IFN- γ und TNF- α beteiligt sind [61, 67].

1.3 TNF-/TNFR-Superfamilie

Den B-Lymphozyten und Plasmazellen des Immunsystems wird neben der Synthese von DSA eine bedeutende Rolle in Verbindung mit ABMR und frühzeitigem Transplantatversagen/-verlust zugeschrieben [68]. Beachtet man zusätzlich den Aspekt, dass intragraftäre B- und Plasmazellen nicht zwingend in Korrelation mit humoraler Abstoßung stehen, wird deutlich, dass weitere Mechanismen daran beteiligt sein müssen [69]. In Anbetracht dessen rückt eine interessante Tumornekrosefaktor-/Tumornekrosefaktor-Rezeptor-(TNF-/TNFR-)Superfamilie immer weiter in den Vordergrund aktueller Forschungen. Bestehend aus mehreren Liganden und Rezeptoren scheint diese an zahlreichen immunologischen Prozessen beteiligt zu sein und

beeinflusst unter anderem die Zellproliferation, das Zellüberleben, die Zelldifferenzierung, sowie die Zellapoptose.

Ein besonderer Fokus sollte hierbei auf zwei dieser Liganden und deren dazugehörige Rezeptoren gelegt werden: BAFF und der Proliferation-induzierende-Ligand (APRIL; a proliferation inducing ligand), sowie deren Rezeptoren: der BAFF-R, das B-Zell-Reifungsantigen (BCMA; B-cell maturation antigen) und der Transmembranaktivator und Calcium-Modulator- und Cyclophilin-Ligand-(CAML)Interaktor (TACI; transmembrane activator and CAML interactor)[70].

1.3.1 BAFF

BAFF wird von den B-Lymphozyten für eine normale Entwicklung benötigt. Er kann an die drei Rezeptoren BAFF-R, BCMA oder TACI mit unterschiedlicher Affinität binden (an BAFF-R am stärksten, an TACI stark und an BCMA am schwächsten) und beeinflusst somit die Proliferation, die Reifung und das Überleben von B-Lymphozyten. Außerdem ist er an der Regulierung des Immunglobulinklassenwechsels und der Antikörperproduktion beteiligt [71–73].

Als Mitglied der TNF-Superfamilie ist er auch bekannt als: B-Lymphozyten Stimulator (BLyS; B-lymphocyte stimulator), TALL-1, THANK, zTNF4, CD257-Antigen oder TNFSF13B. Die Produktion und Sezernierung von BAFF erfolgt hauptsächlich von myeloischen Zellen: Makrophagen/Monozyten und dendritischen Zellen. Zum Teil aber auch von nicht-lymphoiden Zellen, wie Astrozyten, Epithelzellen der Speicheldrüsen und fibroblastenartigen Synoviozyten, sowie von den Nasen- und Bronchialepithelzellen [74–76].

Synthetisiert wird BAFF als membrangebundenes Typ-II-Transmembranprotein, welches nach proteolytischer Spaltung durch eine Furinprotease ebenfalls in einer löslichen Form (BAFF-s; B-cell activating factor soluble) vorliegen kann [77, 78].

Über die Bindung an die spezifischen BAFF-Rezeptoren vermittelt BAFF seine verschiedenen, biologischen Funktionen im Immunsystem.

Die Abbildung 1.3 zeigt vereinfacht die Interaktion/Wirkung von BAFF und APRIL mit den einzelnen Rezeptoren.

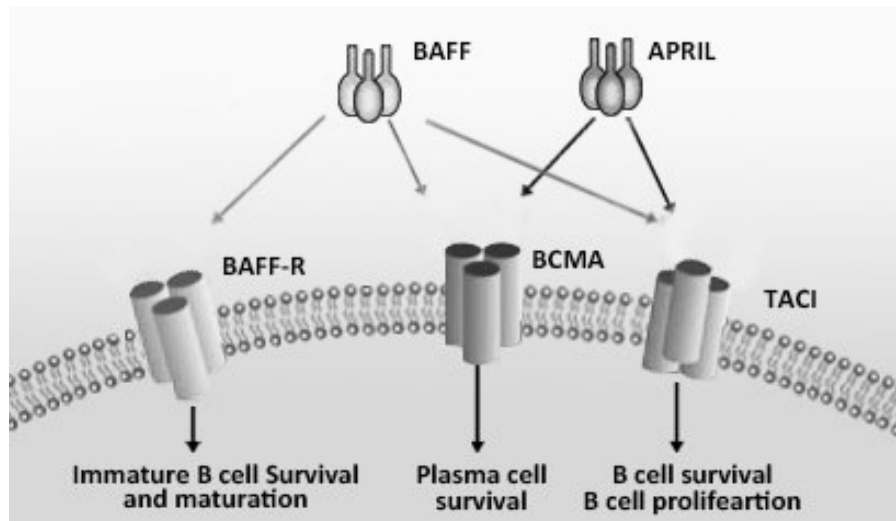


Abbildung 1.3: BAFF- und APRIL-Rezeptoren

Schematische Darstellung der spezifischen Rezeptoren des B-Zell-Aktivierungsfaktors BAFF und des Proliferation-induzierenden-Liganden APRIL. BAFF ist in der Lage an die Rezeptoren BAFF-R, BCMA und TACI zu binden und damit das Überleben und die Reifung unreifer B-Lymphozyten, das Überleben von Plasmazellen und das Überleben und die Proliferation von B-Zellen zu beeinflussen. APRIL bindet nur an BCMA und TACI und führt damit zum Überleben von Plasmazellen und zum Überleben und Proliferieren von B-Zellen.

BAFF: B-Zell-Aktivierungsfaktor; APRIL: Proliferation-induzierender-Ligand;
 BAFF-R: BAFF-Rezeptor; BCMA: B-Zell-Reifungsantigen; TACI: Transmembran-Aktivator und Calcium-Modulator und Cyclophilin-Ligand-Interaktor [79]

TACI

Zu den biologischen Funktionen im Immunsystem zählt unter anderem die Aktivierung des IgG-, IgA- und IgE-Klassen-/Isotypenwechsels (CSR; class switch recombination) in B-Lymphozyten. Aufgrund dieses Mechanismus sind aktivierte B-Zellen (Plasmazellen) in der Lage, ihre Antikörperproduktion von einem Isotyp (beispielsweise IgM) auf einen anderen (beispielsweise IgG) umzuwandeln. Sowohl IgM als auch IgD werden von naiven, reifen B-Lymphozyten gebildet. Um einen neuen Antikörperisotyp durch CSR auszubilden, brauchen B-Lymphozyten zwei Signale. Üblicherweise stammt das erste davon von den T-Lymphozyten. Genauer gesagt, von den von ihnen sezernierten Zytokinen IL4, IL10, IL13 und TGF- β . Das zweite Signal stammt von dem Einsatz des B-Zell-Oberflächenmoleküls CD40.

Auch einer der BAFF-spezifischen Rezeptoren zeigt hier seine biologische Wirkung: TACI. Dieser Transmembran-Aktivator und CAML-Interaktor befindet sich als Transmembranprotein auf der Zelloberfläche aller B-Zell-Arten und auf aktivierten T-Zellen und ist primär für die CSR- und IgA-Produktion beim Menschen zuständig.

Durch eine gestörte Hochregulierung wird ihm gleichzeitig eine wichtige Rolle bei der B-Zell-Hyperaktivität und Krebsentwicklung zugeschrieben [76, 80–84].

BAFF-R

Der hochaffine Rezeptor BAFF-R befindet sich vornehmlich auf Effektor-T-Zell- und auf allen peripheren B-Zell-Oberflächen. Er reguliert stark das Überleben und die Reifung unreifer B-Lymphozyten und beeinflusst die Produktion von IgE und T-Zell-Antworten. Kommt es zu einer Bindung von BAFF an BAFF-R auf TH0-Zelloberflächen, tritt eine Verstärkung der TH1-Zellaktivität ein (vermehrte Sezernierung von IFN- γ), was wiederum zu Überempfindlichkeitsreaktionen vom verzögerten Typ führt. Nebenbei kommt es zu einer Hemmung der durch TH2-Zellen (IL4, IL5) vermittelten allergischen Entzündung. Auch die Funktion und Produktion von TH17-Zellen wird von BAFF beeinflusst. Diese TH-Zelltypen produzieren IL17, welches in Korrelation mit Entzündungen und Knochenzerstörung bei Autoimmunerkrankungen steht. Ganz allgemein fördert BAFF also TH1-assoziierte Entzündungsreaktionen, indem er die TH1- und TH17-Signalwege antreibt [56, 85–89].

Die Expression von BAFF-R beginnt bereits in neu gebildeten B-Lymphozyten, welche anschließend das Knochenmark verlassen. Das könnte ein wichtiger Hinweis darauf sein, dass die frühzeitige B-Zell-Differenzierung, beispielsweise die Prä-B-Zell-Entwicklung und IgM-Zell-Produktion, nicht durch BAFF beeinflusst wird. Essentiell scheint die BAFF-R-Expression aber für das Überleben und Reifen von naiven, unreifen B-Lymphozyten zu sein und wird deshalb in der Reifungsphase der Übergangs-B-Zellen zu T1 oder T2 B-Zellen benötigt.

BCMA

Bei dem Rezeptor mit der niedrigsten BAFF-Affinität handelt es sich um BCMA. Dieser befindet sich vornehmlich auf Plasmazellen und Plasmablasten, wird aber beispielsweise auch von den malignen Plasmazellen des Multiplen Myeloms exprimiert. [8, 90]. Zu der wichtigsten Funktion zählt die Förderung des Überlebens langlebiger Plasmazellen im Knochenmark. Studien konnten zeigen, dass diese Funktion vornehmlich von APRIL abhängt, welcher mit einer höheren Affinität an BCMA binden kann. Man fand heraus, dass es zu einer Hochregulierung des BAFF-Spiegels während chronischen Infektionen und/oder Entzündungen durch IFN- γ , IL 10 und CD40-Ligand kommt [91]. BAFF konnte mit verschiedenen Krankheiten in Verbindung gebracht werden. Ein Nachweis erhöhter BAFF-Serumspiegel fand man bei Autoimmunerkrankungen wie dem systemischen Lupus erythematodes (SLE), der rheumatoiden Arthritis, der IgA-Nephropathie, dem Sjögren-Syndrom oder bei interstitiellen Lungenerkrankungen [86, 92–94]. Die BAFF-Expression ist also nachweislich eng mit Autoimmunität verbunden und kann durch Virusinfektionen

und genetische Veränderungen zusätzlich verstärkt werden. Eine Überexpression wie sie beim SLE vorkommt, ist enorm an der Pathogenese dieser Autoimmunkrankheit beteiligt. Eine ganze Reihe gegen BAFF-gerichteter Wirkstoffe wurden in den letzten Jahren für die Therapie des SLE untersucht. Das bislang jedoch einzige Medikament, welches für die SLE-Therapie seit 2011 zugelassen ist, heißt Belimumab. Hierbei handelt es sich um einen monoklonalen Anti-BAFF Antikörper, welcher an den löslichen BAFF-s-Teil bindet und dessen Aktivität inhibiert, indem eine Bindung an die einzelnen Rezeptoren blockiert wird [95, 96].

Die Abbildung 1.4 stellt vereinfacht den Angriffsort des humanen monoklonalen Anti-BAFF Antikörpers Belimumab dar.

Auch im Bereich der Nierentransplantation gibt es Hinweise darauf, dass erhöhte BAFF-Werte prä transplantationem mit einem erhöhten Risiko einer akuten ABMR und einer HLA-Antikörper-Immunsierung einhergehen [97, 98]. Es besteht ebenfalls eine Korrelation zwischen dem BAFF-Serumspiegel und der Entwicklung von DSA post transplantationem [99]. In einer weiteren Studie fand man heraus, dass sich der Vorsensibilisierungsstatus bei Nierentransplantatempfängern in dem BAFF-Niveau widerspiegeln ließ. Die sensibilisierten Patienten litten deutlich häufiger an einer frühen ABMR und hatten nachweislich höhere BAFF-Werte. Im Follow-up konnte man Patienten mit einem erhöhten Risiko für ABMR und einer schlechteren Nierenfunktion anhand steigender BAFF-Serumspiegel identifizieren. Der B-Zell-Aktivierungsfaktor könnte daher, als wichtiger Biomarker in der Nierentransplantation, das immunologische Risikoprofil von Patienten widerspiegeln und eventuell auch als Prädiktor dienen [100]. Lokal produzierter B-Zell-Aktivierungsfaktor scheint durch seine Regulierung der humoralen Immunantwort auch an der Entwicklung von Transplantatverlusten beteiligt zu sein und beeinflusst als Zytokin damit vermutlich aktiv die Langzeitergebnisse von Nieren-Allotransplantaten [101]. Damit wird die immense klinische Relevanz und das enorme Potenzial von BAFF in der Diagnostik deutlich. Nicht nur bei organspezifischen und systemischen Autoimmunerkrankungen, sondern vermutlich auch bei einer Vielzahl allergischer, infektiöser und maligner Erkrankungen. Mit gemessenen BAFF-Konzentrationen könnte man Krankheitsverläufe überwachen und Krankheitsaktivitäten anzeigen. BAFF-Targeting-Therapien wären erfolgversprechende, neue Therapeutika um die Langzeiterfolge der Nierentransplantatfunktion für den Patienten deutlich zu verbessern [86].

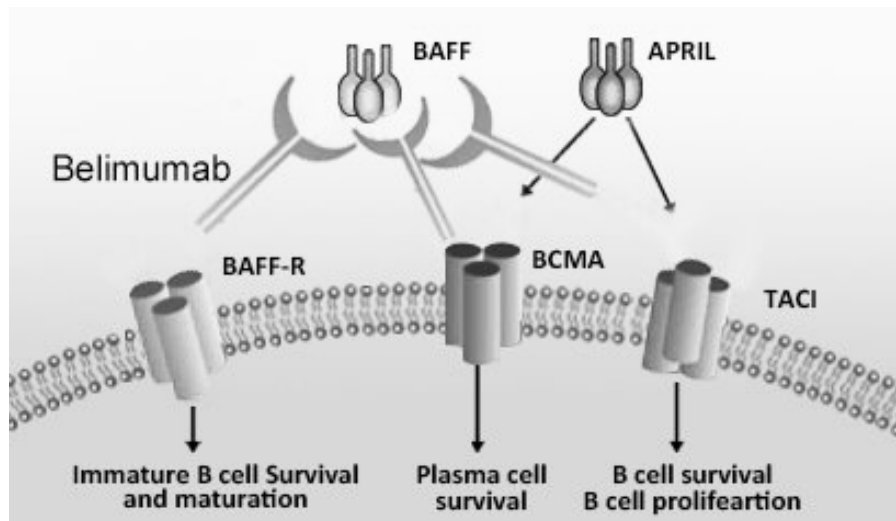


Abbildung 1.4: Therapeutische Angriffspunkte von Belimumab

Schematische Darstellung der therapeutischen Angriffspunkte von Belimumab. Dieser hemmt die Bindung von BAFF an dessen Rezeptoren (BAFF-R, BCMA und TACI). APRIL hingegen behält seine Bindungsmöglichkeiten an BCMA und TACI [79].

1.3.2 APRIL

Während BAFF als Überlebens- und Fitnessfaktor zur Aufrechterhaltung der B-Lymphozyten-Homöostase dient, indem er in der Übergangsphase der B-Zell-Entwicklung wirksam wird, moduliert APRIL eher das Überleben und die Funktion antigenerfahrener B-Lymphozyten [102].

APRIL, auch bekannt als: TALL-2, TRDL-1, CD256-Antigen oder TNFSF13A, gehört ebenfalls der TNF-Superfamilie an und wird von Makrophagen/Monozyten, dendritischen Zellen, aktivierten T- und B-Lymphozyten und von verschiedenen Tumorzellarten hauptsächlich in löslicher Form produziert [87].

BAFF und APRIL weisen strukturelle Analogien auf und stimmen in ihren charakteristischen Rezeptoren überein. TACI (TNFRSF13B) und BCMA (TNFRSF17) sind Rezeptoren, an welche BAFF und APRIL gleichermaßen binden können, wobei APRIL für den BCMA-Rezeptor den bevorzugten Liganden darstellt [72, 73, 103]. Nur an BAFF-R (BR3/TNFRSF13C) kann einzig und allein BAFF koppeln [104, 105]. Man fand heraus, dass BAFF- und APRIL-Rezeptoren in unterschiedlicher Weise während der B-Lymphozyten-Entwicklung exprimiert werden. Auf den Zelloberflächen intakter B-Zellen ist nur die BAFF-R-Expression beobachtet worden. Eine BAFF-R- und TACI-Expression fand man auf den Oberflächen von Marginalzonen- und Gedächtnis-B-Lymphozyten und auf Plasmazellen beobachtete man eine Expression von TACI und BCMA [106].

APRIL trägt ebenfalls zu einer Ausprägung der humoralen Immunantwort bei, indem es den Immunglobulinklassenwechsel stimuliert und an der Etablierung und

dem Überleben langlebiger Plasmazellen beteiligt ist und damit der Aufrechterhaltung des Plasmazell-Pools dient.[102]. Auch dieses Zytokin scheint laut einigen Studien an Erkrankungen im Bereich der Nieren beteiligt zu sein. Es konnten erhöhte Serum-Werte mit einer rezidivierenden Immunglobulin-A-Nephropathie in Verbindung gebracht werden. In den Gewebeproben von Nierentransplantaten mit ABMR (ABMR-Gewebe) wurden ebenfalls erhöhte APRIL-Werte beobachtet, und in Verbindung mit BAFF, mit einer Beteiligung an einem Fortschreiten der ABMR assoziiert. Das lässt darauf hoffen, dass mit weiteren Kenntnissen und Forschungen auch APRIL als möglicher Prädiktor verwendet werden könnte, um sowohl das langfristige Nierentransplantatüberleben als auch die Nierentransplantatfunktion für den Patienten zu verbessern, indem Therapiekonzepte optimiert und zugrundeliegende Pathomechanismen noch besser verstanden werden [107–109].

Fazit

Bei APRIL und BAFF handelt es sich um kritische Überlebensfaktoren für B-Lymphozyten und Plasmazellen. APRIL ist aktiv an dem Überleben von Plasmablasten und Plasmazellen beteiligt. BAFF übt seine Funktion als Stimulator für das Überleben und die Proliferation von B-Lymphozyten aus.

Als Effektorzellen fungieren Plasmazellen und reife B-Lymphozyten bei der Aktivierung von T-Lymphozyten, was letzten Endes zu einer zellulären Abstoßung führen kann. Durch die Produktion von DSA sind sie zusätzlich an der Entwicklung einer ABMR beteiligt [110–114]. Nach wie vor zählt diese zu den häufigsten Ursachen für ein spätes Nierentransplantatversagen. Zu den aktuellen Behandlungsstrategien einer ABMR gehören: die Antikörperentfernung durch Plasmapherese und intravenöse Immunglobulingabe, sowie auf Plasmazellen gerichtete Proteasom-Inhibitoren und Anti-CD20 Antikörper (Rituximab). Dennoch bleibt die cABMR ein bedeutsames Hindernis im Hinblick auf langfristige Erfolge in der Nierentransplantation und es fehlen effektive Behandlungsstrategien dagegen. B-Lymphozyten sollten gezielt in ihren verschiedenen Entwicklungsstadien angesprochen werden, um eine DSA-Produktion und Abstoßungsreaktionen zu verhindern [114–122].

Die Zytokine der TNF-Superfamilie haben verschiedene und sich überschneidende Aufgaben in der humoralen Immunität. Es scheint eindeutig zu sein, dass sowohl BAFF als auch APRIL eine Schlüsselrolle in der Pathogenese von Krankheiten spielen, welche eine Beteiligung von autoreaktiven B-Lymphozyten aufweisen. Dieser Aspekt machte sie, beispielsweise beim SLE, bereits zu grandiosen Zielstrukturen für neue etablierte Therapien. Es gibt Hinweise, dass eine gemeinsame BAFF-/APRIL-Blockade zu einer vollständigen Hemmung der Prozesse führen könnte, welche an der Autoantikörperproduktion beteiligt sind. Weitere Studien sind aber auch hier noch zwingend notwendig [102].

1.4 Abstoßungsreaktionen

Bei der Nierentransplantation handelt es sich um eine allogene Transplantation. Das heißt, es wird ein Organ (die Niere) von einem Spender zu einem Empfänger übertragen, welche derselben Spezies (Mensch) angehören. Spender und Empfänger stellen jedoch meist genetisch unterschiedliche Individuen dar. Die größte Herausforderung ist daher die Immunantwort des Empfängers gegen die Alloantigene des Spenders. Werden die immunologischen Prozesse nicht ausreichend kontrolliert und therapiert, kommt es zu einer Alloreaktivität gegen das Transplantat. Die Folge ist eine Transplantatabstoßung. Diese kann entweder durch eine Immunantwort und ein direktes Erkennen durch zytotoxische CD8⁺ T-Killerzellen und präformierte Antikörper möglich sein, oder aber durch eine Immunantwort und ein indirektes Erkennen durch CD4⁺ TH-Zellen und produzierte Antikörper [123].

Abstoßungsformen

Kommt es zu einer Reaktion des Empfängerimmunsystems auf das transplantierte Gewebe, spricht man von einer Abstoßungsreaktion. Ohne eine Behandlung führt diese früher oder später zu einem Funktionsverlust des transplantierten Organs. Anhand des zeitlichen Verlaufs/Vorkommens und der ursprünglichen Pathophysiologie lassen sich 3 Abstoßungsreaktionen unterscheiden: die per-/hyperakute, die akute und die chronische Abstoßung.

1.4.1 Perakute/Hyperakute Abstoßung

Bei der per-/hyperakuten Abstoßung handelt es sich um eine sofortige Reaktion (innerhalb kürzester Zeit nach der Reperfusion des Transplantats) gegen das Spenderendothel. Zu den klinischen Kennzeichen zählen: eine bläuliche Verfärbung der Niere binnen Minuten bis Stunden nach der Transplantation und ein Unterschreiten der physiologischen Urinmenge (Anurie). Ursächlich für eine solche Reaktion sind bereits vor der Transplantation vorhandene Antikörper (präformierte Antikörper) beim Empfänger gegen die allogenen Blutgruppen- und MHC-Antigene. Präformierte Antikörper können aufgrund unterschiedlicher ABO-Systeme bereits vorhanden sein, oder als Antwort auf eine vorangegangene Bluttransfusionen, Transplantation oder im Rahmen einer Schwangerschaft neu entstanden sein. Nach erfolgter Wiederherstellung des Blutflusses, der Reperfusion des Transplantats, kommt es dann zu einer Reaktion der Alloantikörper auf die Antigene des Spenderendothels und damit zu einer Aktivierung der Gerinnungskaskade und des Komplementsystems. Die Folge ist die Bildung von Thromben, welche zu einer Ischämie und damit zu einer Gewebszerstörung führen können. Diese Reaktion ist in der Transplantationsmedizin am meisten gefürchtet, da ein sofortiges Entfernen des Transplantats (Nephrektomie) für den Patienten die Folge wäre, da es sich hierbei um eine potenzielle

Lebensbedrohung handelt. Aufgrund moderner und zahlreicher präventiver Diagnostik (Crossmatch/Kreuzprobe) kann diese Abstoßungsform mittlerweile effektiv vermieden werden. Bei der Kreuzprobe erfolgt prätransplantationem eine Detektion präformierter Antikörper in dem Empfängerserum. Das ermöglicht eine Optimierung bei der Zuordnung zwischen Transplantat und Empfänger [14, 124].

1.4.2 Akute Abstoßung

Einige Tage bis Wochen nach der Nierentransplantation kann es durch eine von T-Lymphozyten vermittelte Endothelschädigung zu einer akuten Abstoßung kommen. Klinisch würde sich diese durch das Auftreten von Fieber, Flüssigkeitsretentionen, Druckschmerzhaftigkeit über dem Transplantat, sowie mit Oligourie und einer Proteinausscheidung (Proteinurie) äußern. Da die Spezifität dieser klinischen Symptome eher gering ist, geht man differentialdiagnostisch von einer akuten Abstoßung aus, wenn ein Anstieg des Plasma-Kreatinin-Wertes, und damit einhergehend, eine akute Transplantatdysfunktion erkennbar wird. Für die Sicherung dieser Diagnose sollte jedoch zusätzlich eine Biopsie durchgeführt werden.

Pathologisch lassen sich zwei Formen der akuten Abstoßung unterscheiden: die akute zelluläre und die akute humorale Abstoßungsreaktion. Dank fortschrittlicher Immunsuppressiva können akute Abstoßungsreaktionen heutzutage deutlich reduziert werden [124, 125].

Akute zelluläre Abstoßung

Bei dieser Form der akuten Abstoßungsreaktion kommt es aufgrund der Erkennung fremder MHC-I- und MHC-II-Moleküle zu einer interstitiellen Akkumulation von mononukleären Zellen ($CD4^+$ und $CD8^+$ T-Lymphozyten) und Makrophagen. Die Sekretion von zytotoxischen Granula (Granzym A und B, Perforin), Zytokinen ($IFN-\gamma$, $TNF-\beta$) und Chemokinen (CCL5 und CCL3), aber auch eine Hochregulierung zytotoxischer Liganden fördern das Entstehen einer Tubulitis/Tubulopathie. Begleitet wird diese Entzündung meist zusätzlich von einer Endotheliitis, sowie von einer Glomerulitis [125]. Ein Therapieansatz bei einer akuten zellulären Abstoßung erfolgt mithilfe einer parenteral verabreichten Kortikosteroid-Bolustherapie. Zusätzlich sollte eine Anpassung der Basis-Immunsuppression erfolgen. Es kann beispielsweise ein T-Zell-depletierender Antikörper verabreicht werden, wenn es zu einem Auftreten Steroid-refraktärer Abstoßungsreaktionen kommen sollte, sich also aufgrund der dauerhaft hohen Glukokortikoid-Zufuhr kein signifikanter Therapieerfolg mehr erzielen lässt [126, 127].

Akute humorale Abstoßung

Wesentlich seltener tritt diese Form der akuten Abstoßung auf. Eine akute humorale Abstoßung kann mit oder ohne T-Zell-Beteiligung vorkommen. Hierbei kommt es durch DSA, welche sich gegen die verschiedenen Antigene auf den Spenderzelloberflächen richten, zu einer Aktivierung des Komplementsystems in den peritubulären und glomerulären Kapillaren. Daraus resultiert eine Chemotaxis von Monozyten und neutrophilen Granulozyten. Durch bestimmte Effektorproteine dieser Entzündungszellen kommt es schließlich zu einer Verringerung der Kapillarfensterung, zu einem Ablösen der Basalmembran und schließlich zu einer Entstehung von Mikrothromben. DSA sind außerdem in der Lage, gemeinsam mit den NK-Zellen, eine Endothelzellyse zu bewirken. So kann es bei besonders schwerwiegenden Fällen sogar zu Blutungen, Nekrosen der arteriellen Gefäßwände und Infektionen kommen [116, 125]. Ein möglicher Therapieansatz ist auch in diesem Fall eine parenteral verabreichte Kortikosteroid-Bolustherapie, sowie zusätzliche Maßnahmen welche auf die DSA-Produktion und -Eliminierung durch Plasmazellen abzielen. Zu solchen Maßnahmen, zählen beispielsweise die intravenöse Verabreichung von Immunglobulinen um die Antikörperproduktion zu modulieren und zu unterdrücken, Plasmapherese oder das Verabreichen von gegen Lymphozyten gerichteten Antikörpern (Rituximab) [127, 128].

1.4.3 Chronische Abstoßung

Es kann auch zu einer späten zellulären Reaktion durch Antikörper kommen. Hierbei handelt es sich um einen langsam fortschreitenden Prozess über Monate oder Jahre nach der Transplantation. Klinisch kann eine Reduktion der glomerulären Filtrationsrate (GFR) in Kombination mit Proteinurie und arterieller Hypertension Hinweise auf eine chronische Abstoßungsreaktion geben. Diese ist das Resultat einer nicht adäquaten Aufrechterhaltung der immunsuppressiven Therapie und stellt die gemeinsame Endstrecke multipler Pathologien dar.

Es kann eine Einteilung der Pathologien in alloreaktive und nicht alloreaktive Mechanismen erfolgen. Alloreaktive Mechanismen entsprechen pathophysiologisch denen der akuten Abstoßung mit dem Unterschied, dass sich hier ein subklinischer Verlauf abzeichnet, welcher zu einem eher langsam voranschreitenden Funktionsverlust des transplantierten Organs führt. Zu den nicht alloreaktiven Mechanismen, welche das Organ ebenfalls langfristig schädigen, gehören unter anderem Ischämie-Reperfusionsschäden, Infektionen oder die Calcineurininhibitor-Toxizität. Letzten Endes führt das Zusammenspiel beider Mechanismen zu der Entstehung einer chronischen Entzündung. Histopathologisch sind Fibrosierungen und Vernarbungen, arteriosklerotische Ablagerungen in den Gefäßen und Atrophie von Glomeruli und Tubuli erkennbar. Das Resultat ist eine Transplantatentzündung und Minderdurchblutung mit subklinisch voranschreitender Fibrosierung und Vernarbung, bis hin zu

einem völligen, irreversiblen Transplantatverlust. Therapeutisch erfolgt eine Optimierung der Immunsuppression mit weniger nephrotoxischen Medikamenten und der Einsatz von ACE-Hemmern oder AT-1-Rezeptor-Inhibitoren, um die Proteinurie zu reduzieren [14, 123–125, 129].

1.5 Transplantationsimmunologie

Immunologische Basisdiagnostik

Eine Nierentransplantation erfordert aufgrund der immunologischen Gegebenheiten eine ganze Reihe an Vorüberlegungen, um nicht nur kurzfristig, sondern auch auf lange Sicht eine solide Transplantatfunktion für den Patienten gewährleisten zu können. Würde man eine autologe oder syngene Transplantation durchführen, wäre dieser Eingriff aus immunologischer Sicht weniger problematisch. Hierbei wären entweder Spender und Empfänger identisch (autolog), oder sogar genetisch identisch (syngen), wie es etwa bei eineiigen Zwillingen der Fall wäre. Da die häufigste Organtransplantationsform jedoch die allogene ist, muss vorab eine gewisse Basisdiagnostik durchgeführt werden, denn hier gehören Spender und Empfänger lediglich der gleichen Spezies (Mensch) an [123, 130].

1.5.1 Donor-spezifische Antikörper

Ein Organtransplantat trägt für ein Gewebe des Spenders typische HLA auf der Oberfläche. Werden diese von dem jeweiligen Empfänger als nicht eigen sondern körperfremd erkannt, beginnt das Empfängerimmunsystem Antikörper dagegen zu produzieren [131]. Im Rahmen der immunologischen Basisdiagnostik sind die Spender-HLA durch Gewebetypisierung bereits prä transplantationem bekannt. Kommt es zu einem Auftreten von Antikörpern in den Untersuchungen nach der Transplantation, welche exakt gegen diese bekannten HLA des Spenders gerichtet sind, handelt es sich um DSA. Diese richten sich charakteristisch gegen HLA der Spenderzellen und somit gegen die Zellen des Organtransplantats.

Präformierte und de novo DSA

DSA, welche erst post transplantationem und somit neu auftreten, werden als dnDSA bezeichnet. Eine Prognose zu ihrer Entstehung ist zum Teil noch sehr schwer [132]. Sind bereits prä transplantationem Antikörper vorhanden, beispielsweise durch ein immunisierendes Ereignis, spricht man von präformierten DSA. Die Wirkung beider DSA-Varianten auf das Transplantatüberleben und die Transplantatfunktion ist oftmals negativ [133, 134].

Relevanz von DSA für die Nierentransplantation

Bereits gegen Mitte der 60iger Jahre kam es zu der Erlangung wichtiger Erkenntnisse über die Bedeutung der DSA-Diagnostik in dem Bereich der Nierentransplantation und man beschrieb relevante Verknüpfungen zwischen dem Vorkommen dieser Antikörper und ablaufenden Abstoßungsreaktionen [135]. Mittlerweile gibt es zahlreiche Studien die sich mit diesem Thema befassen, denn es lässt sich eine klare Assoziation von DSA mit einem schlechteren mittel- und langfristigen Transplantatüberleben, sowie frühzeitig post transplantationem auftretenden Organtransplantatversagen/-verlusten und sogar erhöhten Mortalitätsrisiken nachweisen [132, 136–139]. Donorspezifische Antikörper nehmen somit einen immer weiter steigenden Stellenwert in der klinischen Forschung ein, denn aufgrund der beschriebenen Kausalitäten scheint eine genaue Detektion für Erfolge in der Transplantationsmedizin unerlässlich zu sein [140].

1.5.2 HLA-Typisierung/HLA-(Mis)Match

Bei der Vergabe von Spendernieren wird neben der Berücksichtigung der Blutgruppenantigene vor allem auch dem HLA-System große Beachtung gewidmet. Der Stellenwert der Histokompatibilität der HLA-Moleküle für die Transplantatfunktion ist immens. HLA-I- und HLA-II-Proteine sind Alloantigene und Genprodukte des MHC-Komplexes, welcher sich als großer Genort auf dem Chromosom 6 befindet. Dieser zeichnet sich dadurch aus, dass er enorm polymorphe Gene enthält und eine starke Verantwortung für allogene Gewebeunverträglichkeiten trägt. Aufgrund der außerordentlichen Anzahl an Kombinationsmöglichkeiten, stellt eine zufällige Histokompatibilität, also eine Übereinstimmung der HLA zwischen Empfänger und Spender, ein sehr unwahrscheinliches Szenario dar. Dieser Aspekt benötigt bei der Nierenallokation in jedem Fall große Aufmerksamkeit.

Die Bestimmung der humanen Leukozytenantigene kann durch eine serologische Charakterisierung mithilfe eines Lymphozytotoxizitätstests (LCT; lymphocyte toxicity test) oder molekulargenetisch durch direkte Sequenzierung mithilfe der Polymerasekettenreaktion (PCR; polymerase chain reaction) erfolgen [123]. Aufgrund der enormen Relevanz wird der Übereinstimmungsgrad der HLA auf dem HLA-A, HLA-B (HL-Klasse-I-Antigene) und HLA-DR-Locus (HL-Klasse-II-Antigene) bei der Spender- und Empfängerzuordnung bestimmt. Diese drei HLA-Loci sind die in der Organtransplantation am Relevantesten. Jedoch werden mittlerweile auch die HLA-C (Klasse-I-) und HLA-DQ (Klasse-II-) Antigene bestimmt. Hier gilt der Grundsatz: weniger ist mehr. Denn je weniger HLA-Fehlanpassungen (HLA-MM; human leucocyte antigen mismatches) zwischen Empfänger und Spender herrschen, desto höher liegt die Priorität im Organvergabeverfahren und damit auch im Transplantationserfolg [141]. Insgesamt sind zwischen 0 und 6 Mismatches möglich. Ein Mismatch von 0 für HLA-A, HLA-B und HLA-DR würde den Idealfall widerspie-

geln und der größtmöglichen Übereinstimmung zwischen Spender und Empfänger entsprechen. Die schlechteste Konstellation wären demzufolge jeweils 2 Mismatches für die drei HLA-Loci. Daraus würden insgesamt 6 Mismatches resultieren: eine komplette Diskrepanz in allen untersuchten Allelen [123].

1.5.3 HLA-Antikörpersuche

Die Präsenz von HLA-Antikörpern in dem Empfängerserum stellt ein weiteres Problem für den Transplantationserfolg dar und erhöht deutlich das Risiko einer Abstoßungsreaktion. Daher soll eine Alloantikörperbestimmung bei einem Empfänger ein mögliches Vorhandensein präformierter Antikörper detektieren: man bestimmt den Immunisierungsgrad. Es gibt verschiedene Quellen einer Immunisierung: vorangegangene Bluttransfusionen, Transplantationen, aber auch eine Schwangerschaft. Demzufolge sollte vor allem die Anzahl an Retransplantationen möglichst gering gehalten werden [123, 142].

Um bereits vorab Kenntnisse über das Anti-HLA Antikörper-Profil eines Empfängers zu erlangen, findet eine Serumuntersuchung gegen eine große Gruppe verschiedener Panel-Lymphozyten statt. Das Panel beinhaltet möglichst das HLA-Profil der jeweiligen Population. Es erfolgt hierbei eine Inkubation dieser Lymphozyten mit dem Empfängerserum. Liegen präformierte Antikörper gegen die HLA-Profile der Lymphozyten vor, entsteht eine Bindung, wodurch eine Komplementkaskade ausgelöst wird. Die Folge sind Zellyse und Zelltod, nachweisbar anhand einer ablaufenden Farbreaktion. Mithilfe eines LCTs kann der Sensibilisierungsgrad anhand des Prozentsatzes der lysierten Zellen abgelesen werden [143–145]. Patienten gelten als hochimmunisiert, wenn der Wert der Panel-reaktiven-Antikörper (PRA; panel reactive antibodies) 85% überschreitet.

Bevor es zu der Einführung moderner immunsuppressiver Therapien kam, zeigten hochimmunisierte Patienten aufgrund von Abstoßungsreaktionen enorm hohe Raten für einen Organverlust nach der Transplantation. Es galt demzufolge generell eine klare Kontraindikation zu einer Transplantation. Ein PRA-Screening erfolgt daher regelmäßig alle 3 Monate mit dem Quartalsserum. Zusätzlich sollte es nach jedem auftretenden immunisierenden Ereignis erhoben werden [146, 147].

Auch heutzutage haben hochimmunisierte Patienten mit einem PRA über 85% auf den Wartelisten für ein passendes Spenderorgan nur eine sehr geringe Chance auf ein Organangebot, verbunden mit sehr langen Wartezeiten und damit einhergehend erhöhter Mortalität. Da diese Patientengruppe jedoch immer weiter zunimmt, wurde ein eigenes Allokationsprogramm entwickelt: Acceptable Mismatch (AM). Dadurch konnte eine signifikante Steigerung der Chancen auf ein immunologisch passendes Organ und eine deutliche Verkürzung der Wartezeiten erreicht werden [146, 148]. Neben diesem AM-Programm besteht für eine kleine Patientenzahl eine weitere Option: die Desensibilisierungsmethode. Dabei wird durch Immunadsorption, die Gabe von intravenösen Immunglobulinen (IVIg), Plasmapherese oder die Gabe von

Anti-CD20 Antikörpern (Rituximab) versucht, bei dem Empfänger die Antikörperlast zu senken und eine Transplantation zu ermöglichen. Unter Zuhilfenahme von Rituximab erfolgt eine indirekte Wirkung durch Reduktion der B-Lymphozyten. Eine direkte Verminderung der Antikörper/deren Bindung erzielen Plasmapherese/Immunadsorption und die Gabe von IVIG [120, 149, 150]. Eine Alternative zu dem monoklonalen Antikörper Rituximab stellt die Imlifidase IdeS dar. Hierbei handelt es sich um eine Endopeptidase, welche aus *Streptococcus pyogenes* stammt. Diese führt bei intravenöser Gabe durch ihre Spezifität zu einer raschen Spaltung von menschlichem IgG [151].

Bei hochimmunisierten Patienten ist ein deutlich schlechteres Lanzeittransplantatresultat zu erzielen, wenn eine HLA-inkompatible Transplantation mit vorangegangener Desensibilisierung erfolgte [152]. Jedoch stellt diese risikoreichere Form der Nierentransplantation einen für den Patienten günstigeren Verlauf dar, im Vergleich zu einem langen Verbleiben auf der Warteliste [146, 153]. Dennoch lassen sich trotz Desensibilisierung erhöhte Raten einer ABMR nachweisen. Sowohl bei postmortalen, als auch bei Lebendspenden, welche über die HLA-Grenzen hinaus durchgeführt werden [154, 155]. Man geht hierbei von einer Resensibilisierung, ausgelöst durch DSA-produzierende Zellklone aus, welche vor allem im späteren Verlauf post transplantationem auftreten. Schlussendlich sollte, wann immer möglich, aufgrund der noch immer unsicheren Daten zu Langzeitergebnissen, der oftmals ungenügenden Antikörperunterdrückung und des damit verbundenen erhöhten Verlustrisikos einer gesunden Spenderniere, von experimentellen Ansätzen zugunsten einer Transplantation im AM-Programm abgesehen werden [156].

1.5.4 Crossmatch/Kreuzprobe

Kommt es zu einem konkreten Organangebot, müssen die Empfängerantikörper gegen die HLA des potenziellen Spenderorgans ausgeschlossen werden. Hierfür wird eine Kreuzprobe (zytotoxisches Crossmatch) durchgeführt, welches zur Prävention einer hyperakuten Abstoßung dient.

Bereits seit den 70iger Jahren wird damit die immunologische Verträglichkeit vor einer Nierentransplantation geprüft. Hierbei wird mithilfe eines LCTs das Empfängerserum mit isolierten Spenderlymphozyten versehen und damit auf komplementabhängige, lymphozytotoxische Antikörper getestet. Dabei ist es möglich, sowohl gemischte Spenderlymphozyten, als auch (meist bei immunisierten Empfängern mit HLA-Klasse-II-Antikörpern) T- und B-Lymphozyten des peripheren Blutes und der Milz getrennt voneinander zu testen. Liegen präformierte Antikörper bei dem Empfänger gegen den Spender vor, kommt es zu einer Zelllyse. Kann eine Zelllyse von über 25% nachgewiesen werden, ist die Kreuzprobe positiv. [123, 130, 157]. Ein positiver Crossmatchbefund stellt eindeutig eine Kontraindikation für eine Nierentransplantation dar, da dieser auf eine Empfängeralloimmunisierung gegen den

Spender hinweist. Es herrscht ein erhöhtes Risiko für eine hyperakute Abstoßung des Transplantats, welche therapeutisch nur schlecht beherrschbar ist. [147].

1.5.5 Immunsuppression

Nach erfolgter Transplantation wird für den Erhalt der Organfunktion eine immunsuppressive Therapie durchgeführt. Damit soll therapeutisch eine Unterdrückung der Abwehrreaktion des Empfängers gegen das fremde Spenderorgan erzielt werden. Unabdingbar ist daher eine lebenslange medikamentöse Abstoßungsprophylaxe. Diese besteht klassischerweise aus einer beginnenden Induktionstherapie und einer darauffolgenden Erhaltungstherapie. Jegliche hierbei eingesetzten Medikamente bringen jedoch auch Nebenwirkungen mit sich. Diese entstehen vornehmlich durch die wünschenswerte Wirkung: die Unterdrückung des körpereigenen Abwehrsystems. Hierzu zählt zum Beispiel das Begünstigen eines erhöhten Risikos für das Auftreten von Infektionskrankheiten und das Entstehen von malignen Erkrankungen [123].

Induktionstherapie

Da das Risiko für eine Transplantatabstoßung kurz vor der Reperfusion des Organs am höchsten ist, erfolgt eine Induktionstherapie. Hierbei handelt es sich um eine hoch intensive Form der Immunsuppression, welche den Patienten meist vor, während oder direkt nach der Transplantation verabreicht wird.

Nach exakt durchgeführter Risiko-Nutzen-Abwägung erfolgt die Auswahl des individuellen Induktionsschemas für den jeweiligen Patienten. Zum Einsatz kommen insbesondere Glukokortikoide, Antithymozytenglobulin-Antikörper und Anti-CD25 Antikörper. Ziel ist es, frühe akute Abstoßungsreaktionen zu vermeiden und eventuell auftretende Immunreaktionen in ihrer Intensität abzumildern und damit eine Verlängerung des Transplantatüberlebens zu gewährleisten [158–160].

Erhaltungstherapie

Die Erhaltungstherapie ist die lebenslange Basistherapie transplantierter Patienten. Ziel ist es, später auftretende akute Abstoßungsreaktionen zu vermeiden und ebenfalls ein langes Transplantatüberleben zu ermöglichen. Begonnen wird diese Form der immunsuppressiven Therapie bereits zu dem Zeitpunkt der Operation, wobei die jeweiligen Medikamentendosen im Laufe der Zeit neu eingestellt und reduziert werden. Gewünscht ist ein optimales Gleichgewicht zwischen dem Auftreten möglicher Nebenwirkungen und einer ausreichenden therapeutischen, immunsuppressiven Wirkung. Bewährt haben sich hierbei Medikamente mit verschiedenen Wirkmechanismen, welche in Form von einer Kombinationstherapie verabreicht werden. Damit ist es möglich, die jeweiligen Einzeldosen möglichst gering zu halten und eventuell auftretende Nebenwirkungen zu reduzieren und gleichzeitig eine

Wirkungsmaximierung zu erzielen. Das hierbei am häufigsten in der Transplantationsmedizin verwendete Therapieschema besteht aus einer Dreifachkombination aus einem Calcineurininhibitor, einem Antimetaboliten und Prednisolon [127, 158, 161].

Glukokortikoide

Glukokortikoide gehören zu den Steroidhormonen, sind therapeutisch seit knapp über 50 Jahren im Einsatz und dienen der Inhibition des intrazellulären Transkriptionsfaktors NF- κ B (nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells). Damit sind Glukokortikoide in der Lage, zahlreiche Entzündungs- und Immunmediatoren zu hemmen und somit eine Herunterregulierung der humoralen und zellulären Immunantwort zu erzielen. Glukokortikoide weisen eine generell antientzündliche und immunsuppressive Wirkungsweise auf.

Bekannte Wirkstoffe sind hierbei: Prednisolon (Decortin H®) oder Methylprednisolon (Urbason®). Zu den häufigsten Nebenwirkungen dieser Präparate zählen: Hypertonie, Osteoporose, Diabetes mellitus und Magen-Darm-Ulzera. Aufgrund dessen wird versucht, eine möglichst geringe Dosis im Rahmen der Glukokortikoidtherapie anzustreben. Umstritten ist hierbei ein allmähliches Ausschleichenlassen der Steroide im Rahmen der Erhaltungstherapie bei vornehmlich stabilen Patienten [123, 158, 161, 162].

Calcineurininhibitoren (CNI)

Calcineurininhibitoren zählen seit etwa 25 Jahren zu dem wichtigsten Bestandteil im Bereich der Immunsuppression nach einer erfolgten Transplantation. Zu den bekannten Wirkstoffen zählen: Cyclosporin A (Sandimmun optoral®) und Tacrolimus (Prograf®, Advagraf®). Sie wirken, indem sie eine Inhibition des Enzyms Calcineurin, eine Proteinphosphatase und Schlüsselenzym bei der T-Zell-Aktivierung, bewirken. Dadurch kommt es zu einer Hemmung von immunstimulierenden Zytokinen (IL2, IL3, TNF- α , IFN- γ) und zu einer Drosselung der T-Zell-Aktivierung und T-Zell-Proliferation: die zelluläre Immunantwort wird heruntergefahren.

Auch hier sind schwere Nebenwirkungen bekannt: die akute oder chronische Nephrotoxizität, Neurotoxizität (Schwindel, Depressionen, Tremor) und Diabetes mellitus. Zu den spezifischen Nebenwirkungen des Cyclosporins zählen vor allem eine stärkere Hypertonieneigung und Gingivahyperplasien. Unter einer Tacrolimus-Therapie treten vermehrt neurologische Probleme auf. Damit diese Nebenwirkungen so gering wie möglich gehalten werden, erfolgt in regelmäßigen Abständen eine Kontrolle des Wirkstoffspiegels, um bei Bedarf die Dosierung weiter individuell anpassen zu können. Klinisch wird bevorzugt der Wirkstoff Tacrolimus verwendet, da dieser bei einer größeren immunsuppressiven Potenz ein günstigeres Nebenwirkungsprofil aufweist [123, 158, 161, 163].

Antimetabolite

Zu den Antimetaboliten zählen die Wirkstoffe Azathioprin (Imurek®), Mycophenolat (MPA)/Mycophenolat-Mofetil (MMF, CellCept®) und mikroverkapseltes Mycophenolat-Natrium (EC-MPS, Myfortic®). Diese dienen der Inhibierung der zellulären und humoralen Immunantwort. Hierbei bewirkt Azathioprin als Purinanalogen eine Inhibition der DNA-Synthese. MMF/MMP hemmt die Neusynthese von Purinbasen, welche obligat für die B- und T-Zell-Proliferation sind. Einige Studien konnten zeigen, dass unter MMF-Therapie ein geringeres Auftreten von Abstoßungsreaktionen zu beobachten war. Aufgrund dessen zählt dieser Wirkstoff in vielen Kliniken zu der Standard-Immunsuppression.

Zu den möglichen Nebenwirkungen zählen: gastrointestinale Symptome, Pankreatitis, Hepatitis, maligne Hauttumore und Leukopenie (hervorgerufen durch Azathioprin). Es kann unter einer Antimetabolit-Therapie zu einer dosisabhängigen Knochenmarksdepression kommen, weshalb vor allem zu Beginn einer solchen Therapie regelmäßige Kontrollen des Blutbilds erfolgen sollten [123, 158, 161, 164].

mTOR-Inhibitoren

Zu den mTOR-(mammalian Target Of Rapamycin/mechanistic Target Of Rapamycin) Inhibitoren zählen die Wirkstoffe Sirolimus (Rapamune®) und Everolimus (Certican®). Diese werden als Alternative zu den Antimetaboliten und Calcineurininhibitoren, oder aber auch in Kombination mit Calcineurininhibitoren eingesetzt. Sie bewirken eine Hemmung des mTOR-Komplexes und damit die Hemmung der Wachstumsfaktor-abhängigen Proliferation fast aller Zellen (aktivierte immunkompetente und mesenchymale Zellen). Eine Therapie mit mTOR-Inhibitoren weist geringere Risiken für das Auftreten von Zytomegalievirus-(CMV; Cytomegalievirus) Infektionen auf, hat aber ebenfalls Nebenwirkungen wie: Hyperlipidämie, Thrombozytopenie und Myelosuppression [123, 158, 161, 165].

Antikörper

Soll während der Induktionstherapie die Glukokortikoid-Dosis reduziert werden, oder können Calcineurininhibitoren erst zu einem späteren Zeitpunkt eingesetzt werden, kann die Anwendung von Antikörpern in Betracht gezogen werden. Einige Antikörper (T-Zell-depletierende Antikörper) finden Verwendung bei der Therapie von Abstoßungsreaktionen. Der eindeutige Vorteil einer solchen Antikörpertherapie liegt in der geringeren Inzidenz von akuten Abstoßungen. Jedoch sind damit auch Nachteile, wie erhöhte Therapiekosten und ein gesteigertes Risiko für die Entstehung von Infektionskrankheiten und malignen Erkrankungen verbunden.

Es gibt T-Zell-depletierende und nicht-T-Zell-depletierende Antikörper. Zu den zuerst genannten Antikörpern zählen das Antithymozytenglobulin (Thymoglobulin®, ATG Fresenius®), Muromonab (Orthoclone OKT 3®), ein Anti-CD3 An-

tikörper und Alemtuzumab (MabCampath®), ein Anti-CD52 Antikörper. Diese depletieren neben T-Zellen teilweise auch andere Immunzellen. Zu den nicht-T-Zell-depletierenden Antikörpern zählt Basiliximab (Simulect®), ein Anti-CD25 (IL-2-Rezeptor) Antikörper, welcher an den IL2-Rezeptor aktivierter T-Zellen bindet und diesen damit antagonisiert. Außerdem kommt Belatacept (Nulojix®) als Antikörper während der Erhaltungstherapie zum Einsatz. Dieser blockiert die Oberflächenmoleküle CD80 und CD86 auf APCs, wodurch diese nicht mehr mit den T-Lymphozyten interagieren können. Folglich entsteht eine Inhibierung der T-Zell-Aktivierung [123, 158, 159, 161, 166].

2 Zielsetzung und Aufbau der Arbeit

Da die Phänomene, welche bei chronischem Nierentransplantatversagen auftreten, leider noch immer unzureichend verstanden sind, aber immer mehr Belege darauf hindeuten, dass sowohl dnDSA als auch die ABMR einen bedeutsamen Effekt auf das fortschreitende Allontransplantatversagen haben, befasst sich die aktuelle Arbeit mit der intragraftären Einwanderung von immunologisch relevanten Zellen in einer Kohorte von Nierentransplantatempfängern (n=69) mit bioptisch nachgewiesener IFTA. Anhand klinischer Merkmale, wie IFTA-Zeitpunkt/Zeitpunkt der akuten Abstoßung, wurden die Patienten in 4 Gruppen stratifiziert. Es erfolgte eine Analyse von nacheinander angefertigten Nierenbiopsien eines jeden Patienten post transplantationem. Ziel war es, eine mögliche Korrelation zwischen dem Vorkommen von intrarenalen Makrophagen (CD68⁺-Zellen), T-Lymphozyten (CD3⁺-Zellen), B-Lymphozyten (CD20⁺-Zellen), Plasmazellen (CD138⁺-Zellen) und der Entwicklung von chronischen Transplantatveränderungen zu prüfen.

Wir suchten nach einem möglichen Indikator für das frühe Auftreten einer IFTA, dem Auftreten von dnDSA und dem damit verbundenen verkürzten Transplantatüberleben. Dafür korrelierten wir unsere experimentellen Ergebnisse mit den klinischen. Da vor allem eine deutliche Dominanz von B-Lymphozyten und Plasmazellen in der späten IFTA Gruppe zu erkennen war, versuchten wir eine mögliche Ursache dafür zu identifizieren und untersuchten zusätzlich die intragraftäre Expression der Zytokine BAFF und APRIL. Dazu verglichen wir die durchschnittliche Anzahl der einzelnen Immunzellen pro mm² und die Verhältnisse von CD68⁺-, CD3⁺-, CD20⁺-, sowie CD138⁺-Zellen innerhalb der einzelnen 4 Gruppen. Wir überprüften die Korrelation der durchschnittlichen Anzahl der Immunzellen pro mm² mit der Anzahl der HLA-MM, dem Auftreten von dnDSA, dem Transplantatüberleben und der Transplantatfunktion. Außerdem untersuchten wir eine mögliche Korrelation zwischen der durchschnittlichen Anzahl an CD20⁺- und CD138⁺-Zellen in den Transplantaten und der Expression von BAFF und APRIL sowohl glomerulär als auch interstitiell. Auch das Vorkommen von CD20⁺- und CD138⁺-Zellen in Transplantaten mit verschiedenen HLA-MM und Vorimmunisierungsgraden schauten wir uns genauer an.

Wir erhofften uns mit den daraus gewonnen Erkenntnissen eine Aussage darüber treffen zu können, wie sich der langfristige Erhalt der Nierentransplantatfunktion und der Schutz vor Abstoßungsreaktionen realisieren lässt. Außerdem sollte geklärt werden, ob BAFF und APRIL als mögliche Prädiktoren für das Entstehen von chronischen Allotransplantatabstoßungsreaktionen angesehen werden könnten. Wir

gingen abschließend der Frage nach, wie man sich die BAFF-/APRIL-Diagnostik weiter zu Nutze machen könnte, um eine langfristige Prognoseeinschätzung für das transplantierte Organ zu erlangen und welche möglichen Konsequenzen sich eventuell in Zukunft für die derzeitigen Behandlungsschemata/-strategien daraus ergeben könnten.

3 Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv

Für die Analyse und Auswertung durchsuchten wir die Nierentransplantationsdatenbank der Universitätsklinik Regensburg (UKR) auf Patienten, bei welchen bioptisch eine chronische Allotransplantat-Nephropathie (IFTA) nachgewiesen wurde. Wir konnten von insgesamt 975 Patienten 69 identifizieren, bei denen eine bioptisch gesicherte IFTA vorlag, welche sich als Nachweis einer interstitiellen Fibrose/tubulären Atrophie mit Glomerulopathie und/oder Vaskulopathie definiert.

In unserem beobachteten Patientenkollektiv befanden sich insgesamt 35 männliche und 34 weibliche Patienten. Zu dem Zeitpunkt der Transplantation lag das durchschnittliche Alter bei 57 Jahren. Der älteste, am UKR nierentransplantierte Patient war 80 Jahre und der jüngste 17 Jahre alt. Die Analyse des menschlichen Gewebes fand nach einer gültigen Genehmigung der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Regensburg statt. Es mussten Serienbiopsien von allen Patienten verfügbar sein, wobei die erste Biopsie noch keinerlei Hinweise auf eine IFTA geben durfte. Anschließend wurden routinemäßig 2 Wochen und 3 Monate nach der Nierentransplantation Protokollbiopsien entnommen. Falls eine Funktionsstörung des Nieren-Allotransplantats klinisch offensichtlich war, wurden zusätzliche Biopsien mit Indikationsstellung durchgeführt. Eine Einstufung aller entnommenen Biopsien erfolgte von einem einzigen Pathologen gemäß der Banff '97-Klassifikation [7]. Komplett von unserer Analyse ausgeschlossen wurden Biopsien, bei denen grenzwertige oder subklinische Abstoßungen vorlagen. Es fand für mindestens 3 Monate post transplantationem eine Behandlung aller Patienten mit einer immunsuppressiven Therapie statt. Diese bestand aus: Prednisolon, einem Calcineurin-Inhibitor (Tacrolimus oder Cyclosporin A) und einem Proliferationshemmer (Mycophenolatmofetil oder Mycophenolsäure)[13].

3.2 Beobachtungszeitraum

Eingeschlossen in unsere retrospektive Auswertung wurden alle prospektiv erhobenen Befunde von Patienten, die im Zeitraum von 1998 bis 2012 am UKR transplantiert wurden und anschließend ein regelmäßiges Nachsorge-Screening erhielten. Die zu der Analyse angefertigten seriellen Nierenbiopsien eines jeden Patienten, deckten einen Zeitraum von 4 bis 5266 Tage post transplantationem ab. Im Rahmen des

engmaschigen Nachsorgeprogramms wurden die Kreatininwerte, sowie die GFR innerhalb eines Zeitraums von 14 Tagen bis zu 15 Jahren nach der Nierentransplantation untersucht und aufgezeichnet. Das erfolgte in folgenden Zeitabständen: nach 14 Tagen, nach einem Monat, nach 3 Monaten, nach 6 Monaten, nach einem Jahr und danach weiterführend immer einmal jährlich. Für die Vergleichbarkeit, und ebenfalls im Rahmen der Nachsorge für die Überprüfung der Transplantatfunktion, wurden alle weiteren klinischen und pathologischen (Labor-)Parameter ebenfalls zu den genannten Zeitpunkten erhoben [13].

3.3 Histologie

Formalinfixierung

Die Standardfixationslösung für Biopsien stellt gepuffertes Formalin dar. Eine ausreichende Formalinfixierung erfolgt im Mengenverhältnis Gewebe zu Formalin von etwa 1:10 vor der Paraffineinbettung. Die Zusammensetzung von 4% neutral gepuffertem Formalin ist: 40% Formaldehyd (circa 100 ml), Aqua destillata (circa 900 ml), Natriumdihydrogenphosphat (circa 4 g) und wasserfreies Dinatriumhydrogenphosphat (circa 6,5 g) [167].

Paraffinschnittherstellung

Die Gewebeproben wurden nach erfolgter Formalinfixierung in Form von Paraffinblöckchen fixiert und bei -20°C über Nacht gekühlt. Anschließend härteten diese bei -10°C auf einer Kühlplatte aus. Es erfolgte die Herstellung von $3\ \mu\text{m}$ dicken Schnitten mithilfe eines Schlittenmikrotoms. Abschließend wurden die hergestellten Schnitte in einem Wasserbad gestreckt, auf Objektträger aufgebracht und über Nacht bei 37°C getrocknet [168].

Entparaffinierung

Für die Vorbereitung der Schnitte für weitere Färbungen, erfolgte die Entparaffinierung für 2×10 min in Xylol. Danach die Rehydrierung in absteigender Alkoholreihe: 2×5 min in 100% Ethanol, 2×5 min in 96% Ethanol und 1×5 min in 70% Ethanol und abschließend eine Waschung für 2×5 min in Phosphat-gepufferte Salzlösung (PBS-Puffer; phosphate buffered saline) [168].

Demaskierung

Es folgte eine Demaskierung der Antigenbindestellen. Dazu wurden die Schnitte in eine Antigen-Retrieval-Lösung gestellt und anschließend je nach Zelloberflächenmarker weiterverarbeitet: für CD20 erfolgte eine Autoklavierung (Decloaking Chamber™

Plus; Biocare Medical) für 30 min bei 125 °C, für CD138 erfolgte die Vorbereitung in der Mikrowelle für 10 min bei 630 W. Nachdem die Schnitte abgekühlt waren, erfolgte ein Waschvorgang in PBS-Puffer für 2×5 min. Für alle weiteren Schritte erfolgte abschließend die Lagerung der Schnitte in einer feuchten Kammer um ein Austrocknen zu verhindern [168].

3.4 Immunhistochemie

Die immunhistochemische Färbung erfolgte an den 3 µm Schnitten von in Formalin fixierten und in Paraffin eingebetteten Nierenbiopsien. Hierbei wurde das Prinzip der Antigen-Antikörper-Bindung ausgenutzt, um ein Sichtbarmachen spezifischer Strukturen durch farbliche Markierung zu ermöglichen.

Durch einen spezifischen primären Antikörper erfolgte zunächst die Bindung der gesuchten Antigenstruktur. Das Fc-Fragment (fragment crystallizable) dieses Antikörpers fungierte als Bindungsstelle für den sekundären Antikörper, welcher farblich markiert wurde. Hierbei handelte es sich um eine indirekte Methode, bei welcher der Farbstoff an einem zweiten Antikörper fixiert wurde. Bei einer direkten Methode hingegen, würde man nur einen Antikörper benötigen, welcher in der Lage wäre sowohl das gesuchte Epitop als auch den Farbstoff für eine Markierung zu binden [168].

Verwendete Antikörper

Verwendet wurden folgende Primärantikörper: ein monoklonaler Maus-Anti-Human-CD68 (Klon KP-1, M0814, DAKO), ein monoklonaler Maus-Anti-Human-CD20 (Klon L26, M0755, DAKO), ein monoklonaler Maus-Anti-Human-CD138 (MCA2459-GA, Serotec), ein monoklonales Kaninchen-Anti-Human-CD3 (Klon RM-9107-S, Neo-Marker) und ein monoklonales Ratten-Anti-Human-BAFF (Klon Buffy-1, LS-B2375, LSBio) [13]. Als Sekundärantikörper diente ein Donkey Anti-Mouse IgG H&L (Biotin) 1:500 (Dianova GmbH Hamburg, Germany) und ein Multimer-Antikörper aus dem Ultraview Kit (Ventana Medical Systems Inc., Tucson, USA) [168].

Avidin-Biotin-Komplex-Technik

Für die Signalintensitätssteigerung der indirekten Methode hat sich die Verstärkung durch die enzymgekoppelte Avidin-Biotin-Komplex-Technik (ABC-Technik) bewährt. Bei Avidin handelt es sich um ein aus Hühnereiweiß stammendes, tetrameres Glykoprotein. Dieses zeigt eine sehr hohe Affinität zu Biotin (Vitamin H), indem es diesem 4 Bindungsstellen zur Verfügung stellt. Nach erfolgter Antigenbindung durch den Primärantikörper, erfolgt ein Hinzufügen des biotinylierten Sekundärantikörpers, gefolgt von Avidin. Letzteres geht eine kovalente Bindung zu dem Biotinmolekül ein. Die verbliebenen 3 Bindungsstellen werden mit enzymbeladenem Biotin besetzt.

Bei dem Enzym handelt es sich um eine alkalische Phosphatase. Zum Auslösen der enzymkatalysierten Farbreaktion, welche durch das Binden an Avidin entsprechend spezifisch und intensiv ist, kommt es anschließend durch das Hinzufügen eines Chromogens. Abschließend erfolgt eine Gegenfärbung mit Hämatoxylin-Eosin (Hämalaun), um die umgebenden histologischen Strukturen sichtbar zu machen. Diese ABC-Technik wurde von uns bei der immunhistochemischen Färbung der Zelloberflächenmarker CD20 (B-Lymphozyten) und CD138 (Plasmazellen) verwendet [168]. Die Abbildung 3.1 veranschaulicht vereinfacht den Ablauf der Avidin-Biotin-Komplex-Reaktion.

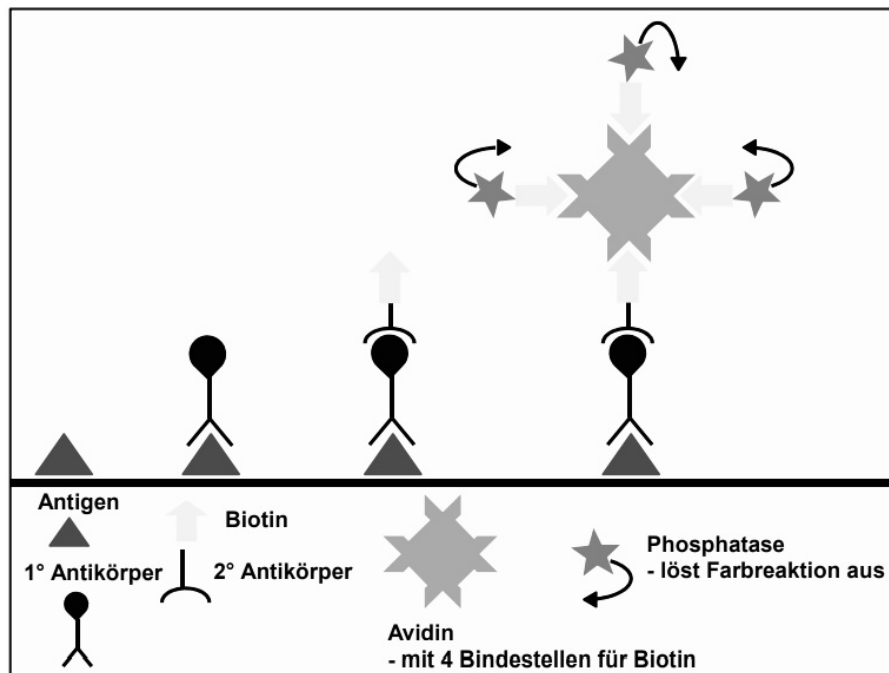


Abbildung 3.1: Avidin-Biotin-Reaktion

Vereinfachtes Schema zur Darstellung der Avidin-Biotin-Reaktion nach [169].

Multimer-Antikörper-Technik

Eine weitere Möglichkeit für die Signalintensitätssteigerung der indirekten Methode, bietet der Einsatz eines Multimers. Mithilfe von Verbindungsstücken kommt es pro verwendetem Sekundärantikörper zu einer vielfachen Bindung von dem Enzym, welches eine Farbreaktion auslöst. Das Hinzufügen eines Chromogens ermöglicht auch in diesem Fall das Erzeugen eines Farbniederschlags, welcher anschließend unter Zuhilfenahme eines Mikroskops optisch auswertbar ist. Der eindeutige Vorteil dieser Methode stellt der Verzicht auf Biotin dar, da dieses aufgrund von endogenem Biotin auch zu einer Färbung des Hintergrundes führen kann.

Diese Multimer-Antikörper-Methode wurde von uns bei der immunhistochemischen Färbung der Zelloberflächenmarker CD68 (Makrophagen) und CD3 (T-Lymphozyten) verwendet. Damit eine einwandfreie Funktionsfähigkeit der Antikörper sichergestellt werden konnte, führten wir sowohl eine Positiv- als auch eine Negativkontrolle durch. Eine Erstellung der Positivkontrolle des Primärantikörpers erfolgte an Milz- oder Tonsillenpräparaten. Die Negativkontrolle fand ohne den Primärantikörper als Test des Gesamtsystems statt, um ein unspezifisches Anfärben an anderen Antigenbindestellen ausschließen zu können [168].

Färbevorgang

Es erfolgte eine Behandlung der Präparate in einer feuchten Kammer für jeweils 15 min, unterbrochen von einem jeweils 2×5 min dauernden Waschvorgang mit PBS-Puffer, Avidin, Biotin und Proteinblock (Superblock). Damit wurde eine Absättigung der unspezifischen Antigenbindestellen und eine Minimierung unerwünschter Hintergrundfärbungen erzielt. Für die Zelloberflächenmarker CD20 (B-Lymphozyten) und CD138 (Plasmazellen) wurde zuerst der Primärantikörper verdünnt aufgetragen und über Nacht inkubiert. Es folgte eine Waschung mit PBS-Puffer für 2×5 min. Anschließend erfolgte, gemäß der vorgegebenen Produktbeschreibung, das Ansetzen der ABC-AP-Lösung und ein anschließendes Auftragen des biotinylierten Sekundärantikörpers (mit PBS-Puffer verdünnt), sowie eine Inkubation für 30 min. Es fand ein erneuter Waschvorgang mit PBS-Puffer für 2×5 min statt. Die zuvor angesetzte ABC-AP-Lösung wurde aufgetragen und ebenfalls für 30 min inkubiert, worauf ein erneuter Waschvorgang mit PBS-Puffer für 2×5 min folgte. Danach wurde das permanent AP Red Kit gemäß Produktbeschreibung angesetzt, aufgetragen und für 10 min inkubiert. Nach einem Spülvorgang mit Aqua dest. für 2 min, erfolgte die Gegenfärbung mit Hämalaun nach Mayer (Merck) für 10 s. Unter fließendem Leitungswasser für 5 min erfolgte das Bläuen. Anschließend wurde für jeweils 1 min eine aufsteigende Alkoholreihe verwendet (70%-96%-96%-100%-100%). In dem vorletzten Schritt wurde für 2×5 min mit Xylol dehydriert und zuletzt erfolgte eine Eindeckung mit Depex und Deckgläschen. Für die Zelloberflächenmarker CD68 (Makrophagen) und CD3 (T-Lymphozyten) wurden die Färbungen von der hauseigenen Pathologie an einem Färbeautomaten (BenchMark ULTRA IHC/ISH Staining Module) nach der Methode U ultraView DAB durchgeführt [168].

3.5 Antikörperdetektion

Luminex-Technologie

Das neueste Verfahren, und die derzeit am häufigsten verwendete Methode für die Diagnostik von HLA-Antikörpern im Bereich der Festphasen-Assays, ist die Luminex-Technologie. Hierbei wird eine durchflusszytometrische Technik verwendet. Aufgrund

der hohen Sensitivität und Differenzierungskapazität wird diese Technologie für die HLA-Antikörperdetektion bei vorsensibilisierten Patienten prä transplantationem eingesetzt, da man damit in der Lage ist, ein individuelles Antikörperprofil für den Patienten zu erstellen [170]. Auch post transplantationem bietet Luminex die Möglichkeit, wertvolle Informationen zu dnDSA und deren Spezifität zu liefern. Das komplette Verfahren basiert auf der Mikropartikel durchflusszytometrie. Hierbei kommen anstelle von Zellen, Beads (Mikropartikel) mit einem Durchmesser von 3 bis 6 μm zum Einsatz. Für die Differenzierung sind die einzelnen Beads farbkodiert und zusätzlich mit gereinigten HLA beladen. Mithilfe von Fluorophor markierten Anti-Human-IgG Sekundärantikörpern erfolgt die Detektion der Mikropartikelbindung der Anti-HLA Antikörper des Testserums [171].

Das Luminex-Messgerät besitzt 2 Laser. Einer davon dient der Erkennung der farbkodierten Beads und der andere der Erkennung der darauf gebundenen Sekundärantikörper mit Fluorophor-Phycoerythrin. Mit dem Festphasen-Test durch Luminex ist ein Nachweis von Antikörpern aller IgG-Subklassen möglich. Eine Unterscheidung, ob diese eine zytotoxische Wirkung besitzen, ist jedoch nicht erreichbar. Jedoch ist insgesamt eine Kombination von bis zu 100 verschiedenen Beads in einer Beadpopulation realisierbar. In einer solchen Suspension sind neben den spezifischen Beads auch eine Positiv- und eine Negativkontrolle vorhanden. Während die Positivkontrollen mit gereinigtem Human-IgG beladen sind und immer reagieren, sind die Negativkontrollen nicht mit HLA beladen. Nach erfolgter Inkubation der Beads mit dem Testserum, erfolgt die Zugabe von Antikörper-Fluorochrom-Konjugaten, gefolgt von weiteren Waschschritten und der Detektion im Doppel-Laser-Durchflusszytometer Luminex [172].

Die Auswertung orientiert sich an den Kontrollen und ermöglicht eine Positiv-/Negativ-Differenzierung. Zur Verfügung stehen verschiedene Ansatzmöglichkeiten, wobei sich innerhalb dieser das Auflösungs-niveau signifikant unterscheidet. Ein solcher Screening-Test verwendet Beadpopulationen, welche mit HLA der Klasse I (HLA-A, -B, -C) und/oder der Klasse II (HLA-DQB1, -DRB1, -DQA) versehen sind. Vor allem im Rahmen der Routine-Diagnostik findet Luminex Anwendung und ermöglicht generell eine Aussage darüber, ob HLA-Antikörper vorhanden sind oder nicht [173]. Soll anschließend noch genauer differenziert werden, kann dies unter Zuhilfenahme von Single-Antigen-Bead-Systemen (Einzelantigen-Tests) erfolgen, bei welchen eine Beadpopulation exakt einem Antigen entspricht. Diese Form macht die Luminex-Technologie diagnostisch sehr wertvoll, da damit eine exakte Spezifizierung der HLA-Antikörper möglich ist [174].

Anwendung

An dem Tag der Nierentransplantation, und zu definierten Zeitpunkten post transplantationem (beispielsweise nach jedem vollendeten Jahr), wurden die EDTA-Plasmaproben der Patienten gesammelt und bei 80 °C gelagert. Untersucht wurde

die zuletzt verfügbare Probe. Als Erstes erfolgte eine Analyse der Proben mithilfe des LABScreen™ Mixed Kit (One Lambda Inc., BmT GmbH) auf das Vorkommen von HLA-Antikörpern der Klasse I (HLA-A, -B, -C) und der Klasse II (HLA-DR). Dafür wurden die Patientenserumproben mit gemischten Mikrosphären, welche vorab mit HLA Klasse I und II beschichtet wurden, für 30 min in Dunkelheit und unter leichtem Schütteln inkubiert. Es folgte eine Waschung der Proben mit nachfolgender Inkubation mit Anti-Human-IgG konjugiertem Fluorophor-Phycoerythrin. Anschließend wurde eine Analyse der Proben mit einem Luminex 200 Durchflussanalysator (Luminex, Austin, TX, USA) durchgeführt. Die Auswertung der Daten erfolgte mit der Software HLA Fusion 3.2 (One Lambda). Die von dem Durchflussanalysator generierte Ausgabedatei diente dabei der Ermittlung des MFI der Anti-HLA Antikörper. Zusätzlich, zum Bereinigen des Hintergrundsignals, wurde die Formel: Proben-Beads minus negative Kontroll-Beads verwendet. Proben mit einem MFI > 500 wurden zusätzlich mit einem LABScreen™ Single Antigen Beads Kit (LABScreen™ SAB, One Lambda Inc., BmT GmbH) auf die Spezifität des Antikörpers getestet. Hierbei erfolgte ebenfalls eine Bereinigung des MFI um das Hintergrundsignal anhand der oben genannten Formel. Routinemäßig wurden die Patienten und Spender einer HLA-Allel-Typisierung von mindestens den A-, B- und DRB1-Loci unterzogen [175].

3.6 Auswertung

Softwarebasierte histologische Auswertung

Die Analyse der Zelloberflächenmarker CD20 (B-Lymphozyten), CD3 (T-Lymphozyten), CD68 (Makrophagen), sowie für BAFF und APRIL wurden mithilfe der Histoquest®-Software, einer Software für die zytometrische Auswertung von Gewebeproben, durchgeführt. Aufgrund der nur für die jeweiligen infiltrierenden Zellen spezifischen Färbung dieser Zellmarker (und keiner weiteren Färbung von Nierenstrukturen), war eine automatisierte Analyse möglich.

Von den angefärbten Schnitten wurden zunächst digitale Bilder angefertigt. Das erfolgte unter einem Mikroskop der Firma Zeiss bei einer 40-fachen Vergrößerung mit der Mikroskopkamera AxioCam ERc5s unter der Zuhilfenahme des Programms AxioVision. Zum Teil handelte es sich um sehr wenig Material, was wiederum eine Aufnahme der gesamten Biopsie ermöglichte. Die Anzahl der Gesichtsfelder entspricht in diesem Fall der Anzahl der Aufnahmen. Hieraus wurde anschließend von der Software eine Gesamtfläche errechnet. Anschließend erfolgte die Untersuchung von 10 Hochleistungsfeldern (HPF) pro Probe jeder Biopsie (Original×400, mit einer Fläche von 296 µm×222 µm). Es wurde nur eine Analyse von Bereichen im Nierenkortex durchgeführt. Die Histoquest®-Software erkennt die in einem spezifischen Blauton vorliegenden Zellkerne, welche mithilfe der Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung) sichtbar gemacht wurden. Vorab kann benutzerspezifisch vorgegeben

werden, welcher Farbton als positiv gewertet werden soll. Auch die Kerndurchmesser (minimal und maximal) und Farbstufen der Hintergrundfärbung (welche als falsch positiv gewertet werden könnten), konnten so vorher definiert werden. Eine gewisse räumliche Beziehung zu einem Kern musste bestehen, um nicht als falsch positives Ergebnis angesehen zu werden. Die eigentliche Analyse aller Gesichtsfelder durch die Software erfolgte nach der Voreinstellung der genannten Standards.

Histoquest® erstellte einen DotBlot und eine Tabelle anhand der Ergebnisse. In der Tabelle befindet sich die Anzahl positiver Zellen/mm² der vorab eingepflegten Gewebeproben. Dadurch wurde eine objektive und vergleichbare Maßzahl erstellt. Um eine interne Kontrolle zu ermöglichen, wurden die Einstellungen zusätzlich speziell an jede Biopsie angepasst. Abschließend erfolgte eine Gegenüberstellung der Ergebnisse mit einer Standardanalyse [168].

Manuelle histologische Auswertung

Es erfolgte neben der softwarebasierten histologischen Analyse eine manuelle, bei welcher die Objektträger unter dem Lichtmikroskop bei 20-facher Vergrößerung ausgewertet wurden. Ursächlich war ein für die automatische Auswertung durch Histoquest® nicht geeignetes Färbemuster der Plasmazellen, da neben den gesuchten einwandernden CD138⁺-Zellen auch eine Anfärbung der Tubuluszellen erfolgte. Die Analyse der positiven CD138⁺- und BAFF-Färbung infiltrierender und tubulärer Zellen erfolgte durch 2 voneinander unabhängigen Untersuchern in dem gesamten menschlichen Biopsiegewebe. Wie zuvor beschrieben [176], erfolgte die Untersuchung in mindestens 10 HPF von 2 verschiedenen Bereichen (5 benachbarte HPF in jedem Bereich) innerhalb des kortikalen Nierengewebes. Die einzelnen Schnitte wurden nach folgenden Kriterien untersucht: 1. Anzahl der Gesichtsfelder, 2. Anzahl der Glomeruli, 3. Anzahl der positiven Zellen in einem Glomerulum, 4. Anzahl der Arterien, 5. Anzahl der positiven Zellen in den Arterien, 6. Anzahl der Venen, 7. Anzahl der positiven Zellen in den Venen, 8. Anzahl der positiven Zellen in dem Interstitium (einzeln und im Cluster vorkommend). Als positive Zellen im Cluster wurden die positiven Zellen, umgeben von mindestens 10 weiteren infiltrierenden Zellen, gewertet. Damit eine einwandernde Zelle als positiv gewertet wurde, legten wir fest, dass ein eindeutig pinker und durchgängiger zytoplasmatischer Ring vorhanden sein musste. Eine alleinige Anfärbung der Kernstruktur, oder einzelne Farbtupfer ohne einen Bezug zu der Zelle, wurden als falsch positiv angesehen [168].

Statistische Auswertung

Die statistische Analyse wurde mit dem Programm Microsoft® Excel® für Microsoft 365 MSO durchgeführt. Es erfolgte zumeist eine Berechnung von Mittelwerten. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung wurde zusätzlich der Standardfehler berechnet und angegeben. Die Ergebnisse wurden vornehmlich graphisch in Form

von Säulen-, Balken- oder Kreisdiagrammen dargestellt. Eine Übersicht der Kohorte wurde tabellarisch angefertigt. Die Bestimmung des Transplantatüberlebens erfolgte nach der Kaplan-Meier-Methode auf der Grundlage von Überlebenskurven und wurde, wie auch bei der Darstellung der Transplantatfunktion, anhand von GFR-Werten in Form von Liniendiagrammen visualisiert.

4 Ergebnisse

4.1 Charakteristika der Studienpopulation

4.1.1 Kohortenstratifizierung

In die Analyse wurden insgesamt 69 Patienten eingeschlossen, bei welchen bioptisch gesichert, eine chronische Nieren-Allotransplantat-Nephropathie (IFTA) festgestellt wurde. Wir identifizierten nach dem Zeitpunkt der IFTA-Diagnose insgesamt 36 Patienten, bei denen binnen des ersten Jahres post transplantationem die Diagnose IFTA gestellt wurde. Bei den übrigen 33 Patienten wurde eine IFTA erst in den Indikationsbiopsien, welche aufgrund von Transplantatfunktionsstörungen oder grober Proteinurie genommen wurden, einige Jahre nach der Nierentransplantation diagnostiziert. Nur wenn in den frühen Kontroll- und Indikationsbiopsien keine IFTA festgestellt wurde, fand eine Einbeziehung in die Analyse statt.

Wir gingen davon aus, dass sich die IFTA-Pathogenese nach ihrem Zeitpunkt in eine frühe und späte IFTA unterteilen lässt. Aufgrund dessen führten wir eine Stratifizierung unserer Kohorte durch. Dabei wählten wir 1 Jahr nach der Nierentransplantation als Cutoff. Außerdem stratifizierten wir nach Hinweisen auf eine akute Abstoßung, wobei hierfür eine Zeitspanne von 3 Monaten nach der Transplantation gewählt wurde. Daraus resultierten insgesamt 4 große Gruppen, welche für die weiteren Analysen wie folgt definiert wurden: Gruppe 1 mit Patienten (n=11), die keine akute Abstoßung hatten, aber bei welchen eine frühe IFTA auftrat (NREI; no rejection early IFTA); Gruppe 2 mit Patienten (n=15), die keine Abstoßung hatten und bei welchen eine späte IFTA auftrat (NRLI; no rejection late IFTA); Gruppe 3 mit Patienten (n=25), die eine akute Abstoßung hatten und bei welchen eine frühe IFTA auftrat (REI; rejection early IFTA) und Gruppe 4 bestand aus Patienten (n=18) mit einer akuten Abstoßung und einer späten IFTA (RLI; rejection late IFTA).

4.1.2 Spenderdaten

Aus der Übersichtstabelle 4.1 wird ersichtlich, dass Spender aus den Gruppen mit der Diagnose späte IFTA etwas jünger waren (RLI: 55 Jahre (21-74 Jahre) & NRLI: 56 Jahre (40-79 Jahre) versus REI: 58 Jahre (17-79 Jahre) & NREI: 60 Jahre (19-80 Jahre)). Bei der Geschlechterverteilung dominierten in den Gruppen mit keiner Abstoßung die weiblichen Spender (NREI: 64% (7 von 11) & NRLI: 67% (10 von 15))

versus REI: 44% (11 von 25) & RLI: 33% (6 von 18)), wohingegen in den Gruppen mit Abstoßung eher die männlichen Spender dominierten (REI: 56% (14 von 25) & RLI: 67% (12 von 18) versus NREI: 36% (4 von 11) & NRLI: 33% (5 von 15)). Spender der Kategorie NREI und NRLI waren im Schnitt etwa gleich groß (NREI: 167 cm (156-178 cm) & NRLI: 167 cm (153-175 cm)), aber kleiner als Spender der Kategorie REI und RLI (REI: 172 cm (159-185 cm) & RLI: 171 cm (150-186 cm)). Das Körpergewicht war nur in der NREI Gruppe signifikant höher als in den anderen 3 Gruppen (NREI: 88 kg (50-190 kg) versus NRLI: 78 kg (50-120 kg), REI: 77 kg (55-100 kg), RLI: 79 kg (52-100 kg)). Prozentual zeigten Spender aus Gruppen mit Abstoßung signifikant häufigere CMV-Infektionen, als Spender der Gruppen ohne Abstoßung (REI: 64% (16 von 25) & RLI: 61% (11 von 18) versus NREI: 46% (5 von 11) & NRLI: 53% (8 von 15)). Es lag eine eindeutig erkennbare Dominanz der Blutgruppe 0⁺ (NREI: 36% (4 von 11), NRLI: 47% (7 von 15), REI: 40% (10 von 25), RLI (44% (8 von 18))), gefolgt von der Blutgruppe A⁺ (NREI: 27% (3 von 11), NRLI: 33% (5 von 15), REI: 28% (7 von 25), RLI: 33% (6 von 18)) in allen 4 Gruppen vor. Die Todesursachen der Spender waren gemischt. Jedoch dominierte prozentual in der späten IFTA der Apoplex/Schlaganfall (CVA; cerebro vascular accident) mit NRLI: 20% (3 von 15) & RLI: 28% (5 von 18). Spender der Kategorie NREI verstarben deutlich häufiger (55% (6 von 11)) an intrazerebralen Blutungen (ICB; intracerebral hemorrhage) und Spender die der REI Gruppe angehörten, öfter (32% (8 von 25)) an einer Subarachnoidalblutung (SAB; subarachnoid hemorrhage). Abschließend lässt sich bei der Betrachtung der Transplantationsart eine weitere, signifikante Tendenz in allen 4 stratifizierten Gruppen erkennen: bei der Mehrheit handelte es sich um postmortale (NREI: 91% (10 von 11), NRLI: 87% (13 von 15), REI: 88% (22 von 25), RLI: 78% (14 von 18)), statt lebende (NREI: 9% (1 von 11), NRLI: 13% (2 von 15), REI: 12% (3 von 25), RLI: 22% (4 von 18)) Nierentransplantatspenden. Am häufigsten erfolgten dabei Spenden von Spendern im Alter von 18 bis 64 Jahren (NREI: 36% (4 von 11), NRLI: 60% (9 von 15), REI: 64% (16 von 25), RLI: 61% (11 von 18)), gemäß dem Euro-Transplant Kidney Allocation System (ETKAS), gefolgt von Allotransplantatspenden gemäß dem Europäischen Seniorentransplantationsprogramm (ESP) von Spendern über 65 Jahren an Empfänger über 65 Jahre (NREI: 64% (7 von 11), NRLI: 33% (5 von 15), REI: 32% (8 von 25), RLI: 22% (4 von 18)). Mit nur 0% bis 17% (NREI: 0%, NRLI: 7% (1 von 15), REI: 4% (1 von 25), RLI: 17% (3 von 18)) waren kombinierte Nieren-Pankreas-Transplantationen (NPTX) am seltensten.

4.1. CHARAKTERISTIKA DER STUDIENPOPULATION

Spenderdaten	keine Abstoßung - frühe IFTA	keine Abstoßung - späte IFTA	Abstoßung - frühe IFTA	Abstoßung - späte IFTA
	NREI (n=11)	NRLI (n=15)	REI (n=25)	RLI (n=18)
Alter (Jahre)	60 (19-80)	56 (40-79)	58 (17-79)	55 (21-74)
Geschlecht (männlich/weiblich); n (%)	4 (36) / 7 (64)	5 (33) / 10 (67)	14 (56) / 11 (44)	12 (67) / 6 (33)
Größe (cm)	167 (156-178)	167 (153-175)	172 (159-185)	171 (150-186)
Gewicht (kg)	88 (50-190)	78 (50-120)	77 (55-100)	79 (52-100)
CMV-Infektion; n (%)	5 (46)	8 (53)	16 (64)	11 (61)
Blutgruppe; n (%)				
A+	3 (27)	5 (33)	7 (28)	6 (33)
A-	0	1 (7)	3 (12)	2 (11)
B+	3 (27)	1 (7)	1 (4)	1 (6)
B-	1 (9)	0	2 (8)	0
O+	4 (36)	7 (47)	10 (40)	8 (44)
O-	0	1 (7)	2 (8)	1 (6)
Todesursache; n (%)				
ICB	6 (55)	2 (13)	5 (20)	2 (11)
SHT	1 (9)	2 (13)	0	2 (11)
SAB	0	2 (13)	8 (32)	0
SDH	0	1 (7)	1 (4)	1 (6)
HHS	1 (9)	2 (13)	2 (8)	2 (11)
CVA	0	3 (20)	3 (12)	5 (28)
Hirnstamminfarkt	0	0	1 (4)	0
Hirnstammlutung	0	0	1 (4)	0
Basilaristhrombose	0	0	1 (4)	1 (6)
Medialinfarkt	2 (18)	1 (7)	0	1 (6)
Art der Transplantation; n (%)				
postmortal	10 (91)	13 (87)	22 (88)	14 (78)
Lebendspender	1 (9)	2 (13)	3 (12)	4 (22)
ET (ESP)	7 (64)	5 (33)	8 (32)	4 (22)
ET (ETKAS)	4 (36)	9 (60)	16 (64)	11 (61)
NPTX	0	1 (7)	1 (4)	3 (17)

Abbildung 4.1: Spenderdaten

Übersicht über die Spenderdaten, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen.

CMV: Zytomegalievirus; ICB: intrazerebrale Blutung; SHT: Schädel-Hirn-Trauma; SAB: Subarachnoidalblutung; SDH: Subduralthämatom; HHS: Hypoxischer Hirnschaden nach Reanimation; CVA: Apoplex, Schlaganfall;

ET (ESP): Eurotransplant (Europäisches Seniorentransplantationsprogramm >65);

ET (ETKAS): Eurotransplant (Eurotransplant-Nieren-Zuweisungs-System 18-64);

NPTX: Nieren-Pankreas-Transplantat

4.1.3 Empfängerdaten

Das durchschnittliche Alter der Empfänger, innerhalb der stratifizierten Gruppen, unterschied sich nicht signifikant voneinander (NREI: 61 Jahre (41-71 Jahre), NRLI: 59 Jahre (22-70 Jahre), REI: 57 Jahre (31-69 Jahre)), mit Ausnahme der Gruppe RLI: 45 Jahre (23-67 Jahre). Es dominierte ganzheitlich in der Geschlechterverteilung das männliche Geschlecht gegenüber dem weiblichen (NREI: 64% (7 von 11), NRLI: 73% (11 von 15), REI: 84% (21 von 25), RLI: 83% (15 von 18) versus NREI: 36% (4 von 11), NRLI: 27% (4 von 15), REI: 16% (4 von 25), RLI: 17% (3 von 18)). Die Ursachen für die Niereninsuffizienz waren gemischt. Während in der NREI und RLI Gruppe die diabetische Nephropathie (NREI: 36% (4 von 11) & RLI: 39% (7 von 18)) ausschlaggebend für eine Nierentransplantation war, war in der NRLI und REI Gruppe (NRLI: 20% (3 von 15) & REI: 24% (6 von 25)) vor allem die hypertensive Nephropathie hauptursächlich, neben der interstitiellen Nephropathie/Tubulopathie (NRLI: 20% (3 von 15) und der chronischen Glomerulopathie (REI: 24% (6 von 25)). Für die Vorbereitung auf die Nierentransplantation erfolgte prozentual zu annähernd gleichen Teilen eine Induktionstherapie (mit Basiliximab oder T-Zell-depletierenden

Antikörpern) innerhalb der einzelnen Gruppen (NREI: 27% (3 von 11), NRLI: 7% (1 von 15), REI: 24% (6 von 25), RLI: 22% (4 von 18)). Ebenfalls erhielten alle Nierentransplantatempfänger eine initiale, immunsuppressive Dreifachtherapie entsprechend dem Goldstandard, bestehend aus einem Calcineurin-Inhibitor, Steroiden und Mycophenolat. Ein erhöhter Nachweis des Komplementspaltprodukts C4d, welches nachweislich auf eine ABMR hinweist, konnte in der frühen IFTA festgestellt werden (NREI: 9% (1 von 11) & REI: 12% (3 von 25) versus RLI: 6% (1 von 18) & NRLI: 7% (1 von 15)). Der Nachweis von PRA zeigte keine signifikanten Unterschiede in den einzelnen Gruppen (NREI: 27% (3 von 11), NRLI: 27% (4 von 15), REI: 36% (9 von 25), RLI: 28% (5 von 18)). DSA konnten in der späten IFTA (NRLI & RLI) deutlich häufiger nachgewiesen werden (NRLI: 33% (5 von 15) & RLI: 33% (6 von 18) versus NREI: 27% (3 von 11) & REI: 24% (6 von 25)), wobei hier signifikant dnDSA dominierten (NRLI: 20% (3 von 15) & RLI: 33% (6 von 18) versus NREI: 9% (1 von 11) & REI: 8% (2 von 25)). DSA aus einer bereits vorangegangenen Transplantation waren nur bei der NRLI und REI Gruppe zu detektieren (NRLI: 13% (2 von 15) & REI: 12% (3 von 25) versus NREI: 0% & RLI: 0%) und nonDSA prä transplantationem wiederum nur in der frühen IFTA Gruppe (NREI: 18% (2 von 11) & REI: 4% (1 von 25) versus NRLI: 0% & RLI: 0%). Eine Wiederholung der Transplantation musste, wenn auch nicht deutlich, häufiger in der NRLI und REI Gruppe erfolgen (NRLI: 27% (4 von 15) & REI: 36% (9 von 25) versus NREI: 18% (2 von 11) & RLI: 17% (3 von 18)).

Die Abbildung 4.2 veranschaulicht die Ergebnisse.

4.1.4 Transplantationsbedingungen

Bei dem Betrachten der Transplantationsbedingungen in Abbildung 4.3 wird deutlich, dass eine verzögerte Nierentransplantatfunktion signifikant häufiger in den Gruppen mit früher IFTA vorkam (NREI: 64% (7 von 11) & REI: 36% (9 von 25) versus NRLI: 13% (2 von 15) & RLI: 17% (3 von 18)), ohne erhebliche Unterschiede in der kalten (NREI: 800 min (61-1380 min) & REI: 795 min (147-2280 min) versus NRLI: 728 min (157-1055 min) & RLI: 589 min (41-1320 min)) und der warmen (NREI: 41 min (30-60 min) & REI: 49 min (30-78 min) versus NRLI: 42 min (19-64 min) & RLI: 40 min (18-74 min)) Ischämiezeit, sowie in der Häufigkeit von CMV- (NREI: 36% (4 von 11), NRLI: 27% (4 von 15), REI: 36% (9 von 25), RLI: 39% (7 von 18)) und Polyomavirus-(BKV) (NREI: 9% (1 von 11), NRLI: 7% (1 von 15), REI: 8% (2 von 25), RLI: 0%) Infektionen nach der Transplantation. Zu akuten zellulären Abstoßungen kam es signifikant häufiger in den Gruppen REI und RLI (REI: 96% (24 von 25) & RLI: 78% (14 von 18) versus NREI: 9% (1 von 11) & NRLI: 20% (3 von 15)). Patienten aus diesen beiden Gruppen wiesen gleichzeitig eine wesentlich höhere Anzahl an HLA-MM für die HLA-A-, HLA-B- und HLA-DR-Loci auf (REI: 3,8 (2-6) & RLI: 3,4 (0-6) versus NREI: 3,1 (0-6) & NRLI: 2,5 (0-4)).

4.1. CHARAKTERISTIKA DER STUDIENPOPULATION

Empfängerdaten	keine Abstoßung - frühe IFTA	keine Abstoßung - späte IFTA	Abstoßung - frühe IFTA	Abstoßung - späte IFTA
	NREI (n=11)	NRLI (n=15)	REI (n=25)	RLI (n=18)
Alter (Jahre)	61 (41-71)	59 (22-70)	57 (31-69)	45 (23-67)
Geschlecht (männlich/weiblich); n (%)	7 (64) / 4 (36)	11 (73) / 4 (27)	21 (84) / 4 (16)	15 (83) / 3 (17)
Ursache der Niereninsuffizienz; n (%)				
diabetische Nephropathie	4 (36)	2 (13)	3 (12)	7 (39)
chronische Glomerulopathie, nicht anders angegeben	0	2 (13)	6 (24)	1 (6)
interstitielle Nephropathie/Tubulopathie	2 (18)	3 (20)	1 (4)	4 (22)
Glomerulopathie, spezifiziert	2 (18)	2 (13)	3 (12)	2 (11)
hypertensive Nephropathie	2 (18)	3 (20)	6 (24)	1 (6)
IgA-Nephropathie	1 (9)	2 (13)	3 (12)	1 (6)
Polyzystische Nierenerkrankung	0	0	2 (8)	1 (6)
unbekannt	0	1 (7)	1 (4)	1 (6)
Transplantation wiederholen; n (%)	2 (18)	4 (27)	9 (36)	3 (17)
C4d; n (%)	1 (9)	1 (7)	3 (12)	1 (6)
Induktionstherapie; n (%)	3 (27)	1 (7)	6 (24)	4 (22)
PRA; n (%)	3 (27)	4 (27)	9 (36)	5 (28)
Höchstwert	16 (21-87)	15 (9-95)	22 (25-95)	15 (8-100)
aktuell	10 (18-86)	4 (12-20)	14 (16-72)	6 (11-62)
DSA; n (%)	3 (27)	5 (33)	6 (24)	6 (33)
nonDSA preTX	2 (18)	0	1 (4)	0
DSA aus 1. TX	0	2 (13)	3 (12)	0
dnDSA postTX	1 (9)	3 (20)	2 (8)	6 (33)
Immunsuppression; n (%)				
Advagraf/MMF/SDH	1 (9)	0	1 (4)	0
CSA/MPA/SDH	1 (9)	0	0	0
CSA/MMF/SDH	0	0	2 (8)	0
CSA/FTY720/SDH	0	1 (7)	0	0
CSA/Everolimus/SDH	0	0	0	1 (6)
Prograf/Myfortic/SDH	2 (18)	2 (13)	4 (16)	2 (11)
Prograf/CellCept/SDH	3 (27)	4 (27)	6 (24)	7 (39)
Prograf/Aza/SDH	0	1 (7)	0	2 (11)
Prograf/FK778/SDH	0	0	1 (4)	0
Prograf/Rapamune/SDH	0	0	1 (4)	0
Rapamune/CSA/MMF/SDH	0	1 (7)	0	0
Sandimmun/FTY720/SDH	1 (9)	0	0	0
Sandimmun/CellCept/SDH	0	1 (7)	0	1 (6)
Sandimmun/Certican/SDH	0	1 (7)	0	0
Sandimmun/Aza/SDH	0	0	1 (4)	0
Tac/MMF/SDH	3 (27)	1 (7)	9 (36)	1 (6)
Tac/MPA/SDH	0	3 (20)	0	1 (6)
Tac/Aza/SDH	0	0	1 (4)	0
Tac/CellCept/SDH	0	0	1 (4)	0
Tac/Rapamune/SDH	0	0	1 (4)	0

Abbildung 4.2: Empfängerdaten

Übersicht über die Empfängerdaten, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen.

C4d: Komplementspaltprodukt, Marker im Transplantat für eine Antikörper vermittelte Abstoßungsreaktion; PRA: Panel Reaktive Antikörper; PRA-Höchstwert: jemals gemessener Höchstwert; aktueller PRA-Wert: im Screening im Quartal vor der Nierentransplantation gemessen;

DSA: Donor-spezifische-Antikörper; nonDSA: nicht Donor-spezifische-Antikörper; dnDSA: de novo Donor-spezifische-Antikörper; FTY720: Fingolimod (Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptorantagonist); FK778: synthetisches Malononitrilamid

Transplantationsbedingungen	keine Abstoßung - frühe IFTA	keine Abstoßung - späte IFTA	Abstoßung - frühe IFTA	Abstoßung - späte IFTA
	NREI (n=11)	NRLI (n=15)	REI (n=25)	RLI (n=18)
warme Ischämiezeit (min)	41 (30-60)	42 (19-64)	49 (30-78)	40 (18-74)
kalte Ischämiezeit (min)	800 (61-1380)	728 (157-1055)	795 (147-2280)	589 (41-1320)
HLA-MM	3,1(0-6)	2,5 (0-4)	3,8 (2-6)	3,4 (0-6)
verzögerte Transplantatfunktion; n (%)	7 (64)	2 (13)	9 (36)	3 (17)
CMV-Infektion nach TX; n (%)	4 (36)	4 (27)	9 (36)	7 (39)
BKV-Infektion nach TX; n (%)	1 (9)	1 (7)	2 (8)	0
Abstoßungen; n (%)	1 (9)	3 (20)	24 (96)	14 (78)

Abbildung 4.3: Transplantationsbedingungen

Übersicht über die Transplantationsbedingungen, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen.

HLA-MM: Fehlanpassung der humanen Leukozytenantigene; BKV: Polyomavirus

4.1.5 Nachbeobachtungszeitraum

Aus Abbildung 4.4 wird ersichtlich, dass ein signifikanter Unterschied im Bereich des Follow-ups zwischen den einzelnen Gruppen vorlag. Für die Gruppen mit früher IFTA war der Nachbeobachtungszeitraum deutlich kürzer als für die Gruppen mit später IFTA (NREI: 78 Monate & REI: 89 Monate versus NRLI: 139 Monate & RLI: 127 Monate). Gemäß der vorgenommenen Stratifizierung ergaben sich dementsprechend die Werte für die Zeit bis zu der IFTA-Diagnose nach der Transplantation. Für die Gruppen mit früher IFTA war dieser Zeitraum deutlich kürzer als für die späten IFTA Gruppen (NREI: 104 Tage (77-182 Tage) & REI: 164 Tage (35-964 Tage) versus NRLI: 1201 Tage (369-2502 Tage) & RLI: 1555 Tage (381-3063 Tage)). Das Urin-Protein-Kreatinin-Verhältnis (UPCR in g/g Kreatinin) war in den späten IFTA Gruppen signifikant erhöht (NRLI: 2,1 (0,065-3,88) & RLI: 1,4 (0,04-5,4) versus NREI: 0,2 (0,04-0,52) & REI: 0,5 (0,02-1,07)). Die Gesamttransplantatüberlebensrate war bei Patienten aus den frühen IFTA Gruppen deutlich geringer (NREI: 52 Monate (3-133 Monate) & REI: 59 Monate (3-168 Monate) versus NRLI: 76 Monate (19-180 Monate) & RLI: 77 Monate (22-144 Monate)), ebenso wie die Zeit bis zu einem Versagen des Transplantats (NREI: 35 Monate (3-133 Monate) & REI: 17 Monate (3-51 Monate) versus NRLI: 44 Monate (19-94 Monate) & RLI: 66 Monate (24-104 Monate)). Jedoch kam es bei den späten IFTA Gruppen signifikant häufiger zu einem Transplantatversagen innerhalb der Nachbeobachtungszeit (NRLI: 67% (10 von 15) & RLI: 61% (11 von 18) versus NREI: 46% (5 von 11) & REI: 33% (8 von 25)).

Nachbeobachtungszeitraum	keine Abstoßung - frühe IFTA	keine Abstoßung - späte IFTA	Abstoßung - frühe IFTA	Abstoßung - späte IFTA
	NREI (n=11)	NRLI (n=15)	REI (n=25)	RLI (n=18)
Nachbeobachtungszeit (Monate)	78	139	89	127
Zeit bis IFTA (d post TX)	104 (77-182)	1201 (369-2502)	164 (35-964)	1555 (381-3063)
UPCR (g/g Kreatinin)	0,2 (0,04-0,52)	2,1 (0,065-3,88)	0,5 (0,02-1,07)	1,4 (0,04-5,4)
Transplantat-Überlebensrate insgesamt (Monate)	52 (3-133)	76 (19-180)	59 (3-168)	77 (22-144)
Transplantatversagen innerhalb der Nachbeobachtung; n (%)	5 (46)	10 (67)	8 (33)	11 (61)
Zeit bis zum Versagen des Transplantats (Monate)	35 (3-133)	44 (19-94)	17 (3-51)	66 (24-104)

Abbildung 4.4: Nachbeobachtungszeitraum

Übersicht über den Nachbeobachtungszeitraum, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen.

IFTA: interstitielle Fibrose/tubuläre Atrophie; d post TX: Tage nach der Transplantation; UPCR: Urin-Protein-Kreatinin-Verhältnis

Fazit

Zusammenfassend konnten wir feststellen, dass die Spender in den späten IFTA Gruppen (NRLI & RLI) etwas jünger waren und sich das Alter der Empfänger (mit Ausnahme der RLI Gruppe) nicht deutlich zwischen den einzelnen Gruppen unterschied. Bei Patienten, bei denen eine akute zelluläre Abstoßung vorlag (REI &

RLI), konnte eine prägnant höhere Anzahl an HLA-MM für die HLA-A-, HLA-B- und HLA-DR-Loci nachgewiesen werden. Eine verzögerte Transplantatfunktion lag deutlich häufiger in den frühen IFTA Gruppen (NREI & REI) vor (NREI: 64% (7 von 11) & REI: 36% (9 von 25) versus NRLI: 13% (2 von 15) & RLI: 17% (3 von 18)), ohne nennenswerte Unterschiede in der kalten Ischämiezeit. Es gab keinerlei kennzeichnende Unterschiede in der Häufigkeit von PRA prä transplantationem, der Transplantationswiederholungsrate, der Ursache des Nierenversagens, auftretende Virusinfektionen (CMV, BKV) post transplantationem oder der Art der Transplantation (postmortal oder Lebendspende). Signifikant unterschied sich das Follow-up zwischen den einzelnen Gruppen (NREI: 78 Monate & REI: 89 Monate in den frühen IFTA Gruppen versus NRLI: 139 Monate & RLI: 127 Monate in den späten IFTA Gruppen). Wie erwartet diskriminierte die Zeit bis zu der IFTA-Diagnose in den Gruppen aufgrund unserer Kohortenstratifizierung (NREI: 104 Tage (77-182 Tage) & REI: 164 Tage (35-964 Tage) versus NRLI: 1201 Tage (369-2502 Tage) & RLI: 1555 Tage (381-3063 Tage)). Innerhalb der Nachbeobachtungszeit entwickelten 46% (NREI), 67% (NRLI), 33% (REI) und 61% (RLI) der Patienten ein Transplantatversagen, welches folglich mit der Notwendigkeit einer Re-Dialyse verbunden war. Das betraf vornehmlich Patienten aus den späten IFTA Gruppen (NRLI: 67% (10 von 15) & RLI: 61% (11 von 18)). Das Gesamttransplantatüberleben war jedoch in den frühen IFTA Gruppen signifikant kürzer (NREI: 52 Monate (3-133 Monate) & REI: 59 Monate (3-168 Monate) gegenüber NRLI: 76 Monate (19-180 Monate) & RLI: 77 Monate (22-144 Monate)). Bei den Patienten, bei denen ein definitives Transplantatversagen verbunden mit der Notwendigkeit zu einer Re-Dialyse auftrat, war der Zeitraum bis zu dem Versagen des Nierentransplantats in den frühen IFTA Gruppen ebenfalls deutlich kürzer (NREI: 35 Monate (3-133 Monate) & REI: 17 Monate (3-51 Monate) gegenüber NRLI: 44 Monate (19-94 Monate) & RLI: 66 Monate (24-104 Monate)).

4.2 Infiltrierende Zellen

Insgesamt erfolgte eine Analyse von rund 228 Nierenbiopsien (2-6 Biopsien pro Patient). Wir analysierten diese innerhalb der 4 Gruppen (NREI, NRLI, REI, RLI) auf infiltrierende Makrophagen (CD68⁺-Zellen), T-Lymphozyten (CD3⁺-Zellen), B-Lymphozyten (CD20⁺-Zellen) und Plasmazellen (CD138⁺-Zellen). Dabei erfolgte durch eine histopathologische Einstufung eine zusätzliche Stratifizierung nach: normaler Histologie [NH], T-Zell-vermittelter Abstoßung [TCMR; T-cell mediated rejection] und interstitieller Fibrose/tubulärer Atrophie [IFTA]. Bei der Analyse der Plasmazellen differenzierten wir zusätzlich nach ihrem Vorkommen als einzelne Zellen oder als Zellcluster.

4.2.1 Makrophagen (CD68⁺-Zellen)

Erkennbar wurde, dass Makrophagen insgesamt eine relevante Menge an infiltrierenden Zellen bildeten. Diese konnten vermehrt in der frühen IFTA Gruppe in der normalen Histologie nachgewiesen werden (NREI NH). Vor allem detektierten wir sie, zusammen mit den T-Zellen, am häufigsten in Verbindung mit der T-Zell-vermittelten Abstoßung (REI TCMR & RLI TCMR), wobei hier eine besonders signifikante Erhöhung in der frühen IFTA Gruppe zu erkennen war (REI TCMR). Die Abbildung 4.5 veranschaulicht die Ergebnisse.

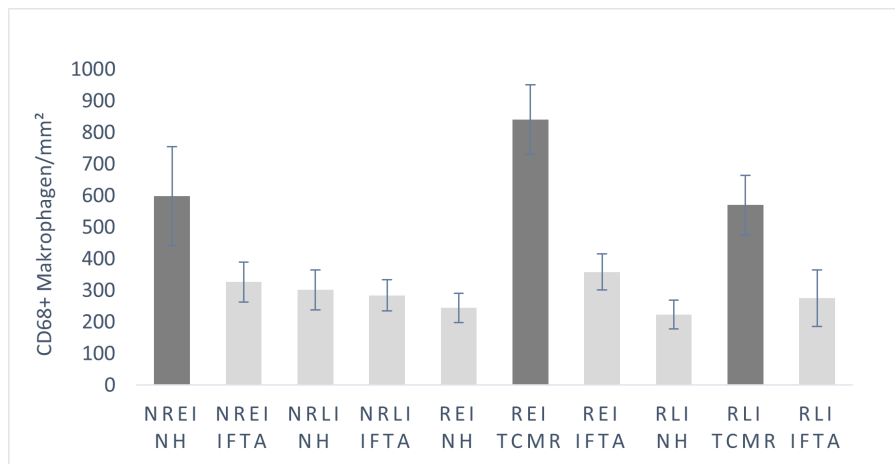


Abbildung 4.5: Infiltrierende CD68⁺ Makrophagen

Durchschnittliche Anzahl infiltrierender CD68⁺ Makrophagen, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben. Dunkelgrau hervorgehoben sind die signifikant erhöhten Infiltratmengen an Makrophagen.

NREI: keine Abstoßung, frühe IFTA; NRLI: keine Abstoßung, späte IFTA;

REI: Abstoßung, frühe IFTA; RLI: Abstoßung, späte IFTA; NH: normale Histologie;

TCMR: T-Zell-vermittelte Abstoßung; IFTA: interstitielle Fibrose/tubuläre Atrophie

4.2.2 T-Lymphozyten (CD3⁺-Zellen)

Unsere Analyse ergab, dass T-Lymphozyten ebenfalls eine relevante Menge an infiltrierenden Zellen bildeten und vor allem bei der T-Zell-vermittelten Abstoßung (REI TCMR & RLI TCMR) eine wesentliche Rolle spielten. Zusätzlich detektierten wir eine erhöhte Anzahl in den späten IFTA Gruppen (NRLI IFTA & RLI IFTA), unabhängig von der vorherigen Abstoßung.

Die Abbildung 4.6 veranschaulicht die Ergebnisse.

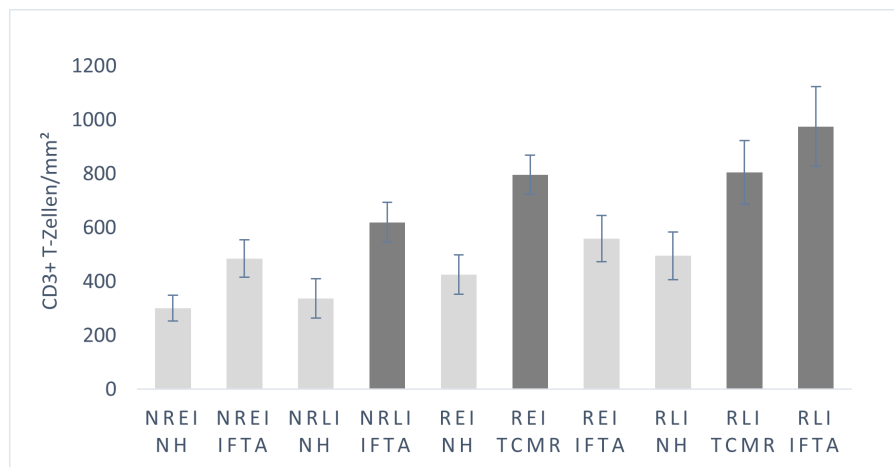


Abbildung 4.6: Infiltrierende CD3⁺ T-Lymphozyten

Durchschnittliche Anzahl infiltrierender CD3⁺ T-Lymphozyten, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben. Dunkelgrau hervorgehoben sind die signifikant erhöhten Infiltratmengen an T-Lymphozyten.

4.2.3 B-Lymphozyten (CD20⁺-Zellen)

Ähnlich dem Vorkommen von Makrophagen und T-Lymphozyten, wurden auch B-Lymphozyten während der T-Zell-vermittelten Abstoßung häufig nachgewiesen (REI TCMR & RLI TCMR). Eine stärker induzierte Einwanderung der B-Lymphozyten konnte in den späten IFTA Gruppen, unabhängig von vorheriger Abstoßung, beobachtet werden (NRLI IFTA & RLI IFTA).

Die Abbildung 4.7 veranschaulicht die Ergebnisse.

4.2.4 Plasmazellen (CD138⁺-Zellen)

einzel

Den seltensten infiltrierenden Zelltyp stellten die Plasmazellen dar. Eine signifikante Einwanderung einzelner CD138⁺-Zellen detektierten wir vor allem in den späten IFTA Gruppen (NRLI IFTA & RLI IFTA), wiederum unabhängig von vorheriger Abstoßung. Auch hier traten erhebliche Mengen im Bereich der T-Zell-vermittelten Abstoßung auf (REI TCMR & RLI TCMR). Hierbei dominierte signifikant die späte IFTA Gruppe (RLI IFTA).

Die Abbildung 4.8 veranschaulicht die Ergebnisse.

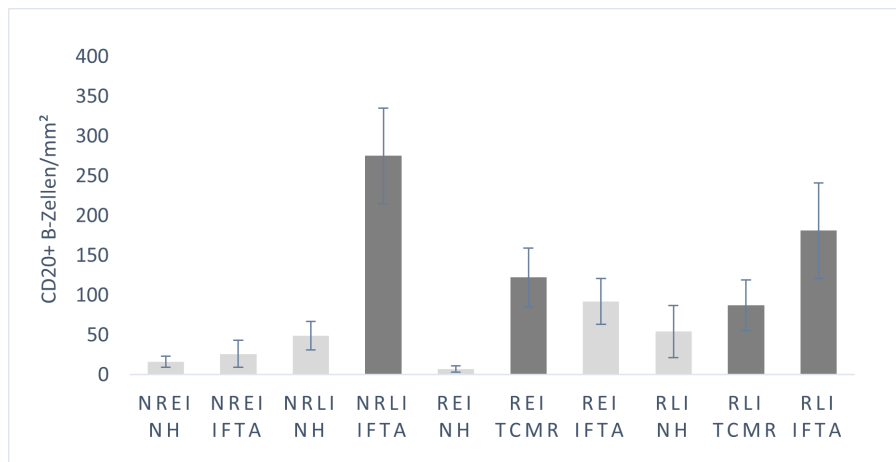


Abbildung 4.7: Infiltrierende CD20⁺ B-Lymphozyten

Durchschnittliche Anzahl infiltrierender CD20⁺ B-Lymphozyten, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben. Dunkelgrau hervorgehoben sind die signifikant erhöhten Infiltratmengen an B-Lymphozyten

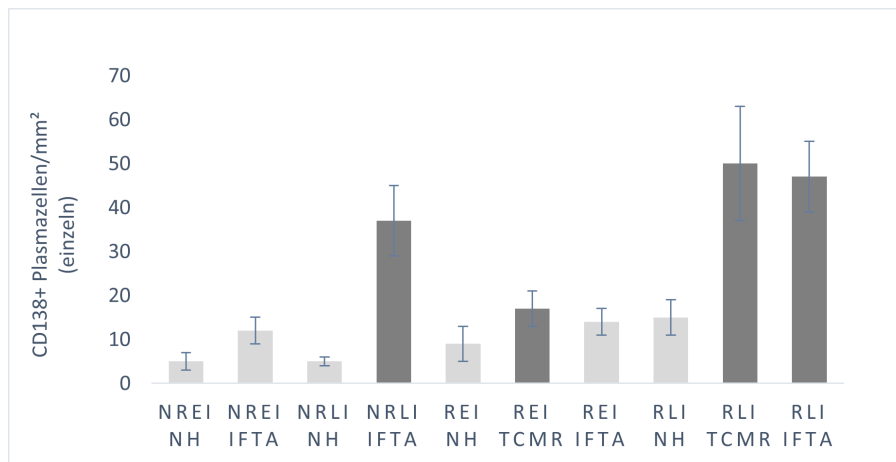


Abbildung 4.8: Infiltrierende CD138⁺ Plasmazellen (einzeln)

Durchschnittliche Anzahl infiltrierender CD138⁺ Plasmazellen (einzeln), quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben. Dunkelgrau hervorgehoben sind die signifikant erhöhten Infiltratmengen an einzelnen Plasmazellen.

geclustert

Das Vorkommen geclustelter Plasmazellen konnten wir vor allem in der T-Zell-vermittelten Abstoßung beobachten (REI TCMR & RLI TCMR). Eine eindeutige Dominanz herrschte erneut in den späten IFTA Gruppen (NRLI IFTA & RLI IFTA), unabhängig von vorheriger Abstoßung.

Die Abbildung 4.9 veranschaulicht die Ergebnisse.

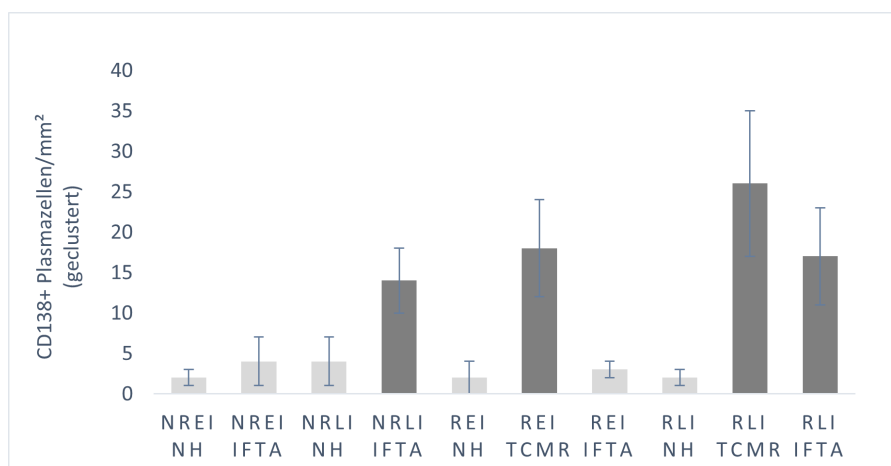


Abbildung 4.9: Infiltrierende CD138⁺ Plasmazellen (geclustert)

Durchschnittlichen Anzahl infiltrierender CD138⁺ Plasmazellen (geclustert), quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben. Dunkelgrau hervorgehoben sind die signifikant erhöhten Infiltratmengen an geclusterten Plasmazellen.

4.3 Vergleich infiltrierender Zellen

Vor allem in den späten IFTA Gruppen (NRLI IFTA & RLI IFTA) herrschte eine ausgeprägte Induktion von Zellen der adaptiven Immunantwort (B-, T- und Plasmazellen). T-Lymphozyten sind eindeutig die Effektoren von Zytotoxizität bei akuten zellulären Abstoßungen (TCMR). Auch Makrophagen, als typische Vertreter des angeborenen Immunsystems, stellten eine relevante Menge an infiltrierenden Zellen dar. Den seltensten Zelltyp von allen infiltrierenden Zellen, bildeten die Plasmazellen. Ihr Vorkommen ließ sich vornehmlich in den späten IFTA Biopsien, sowohl in Auto- als auch in Heteroaggregaten, nachweisen.

4.3.1 B-Zell-/Makrophagenverhältnis

Als Nächstes verglichen wir die Ratio aus CD20⁺- und CD68⁺-Zellen. Dabei wurde vor allem in den späten IFTA Gruppen (NRLI IFTA & RLI IFTA) eine signifikante Dominanz der Makrophagen gegenüber den B-Lymphozyten deutlich. Aber auch bei Patienten mit frühen Abstoßungen und früh-chronischem Verhalten (REI IFTA) waren die Werte der Makrophagen deutlich höher als die Werte der B-Zellen. Die Abbildung 4.10 veranschaulicht die Ergebnisse.

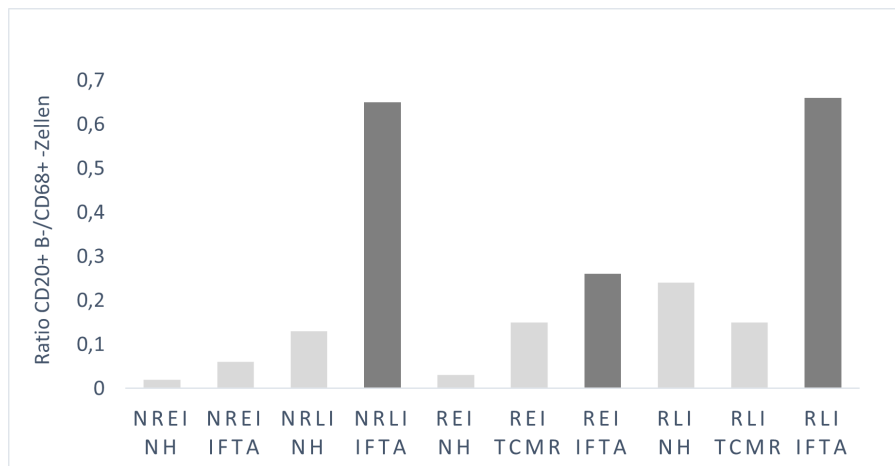


Abbildung 4.10: B-Zell-/Makrophagenverhältnis

Verhältnis zwischen der durchschnittlichen Anzahl an infiltrierenden CD20⁺ B-Zellen und CD68⁺ Makrophagen, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Dunkelgrau hervorgehoben sind die signifikant erhöhten Infiltratmengen an Makrophagen gegenüber den B-Zellen. NREI: keine Abstoßung, frühe IFTA; NRLI: keine Abstoßung, späte IFTA; REI: Abstoßung, frühe IFTA; RLI: Abstoßung, späte IFTA; NH: normale Histologie; TCMR: T-Zell-vermittelte Abstoßung; IFTA: interstitielle Fibrose/tubuläre Atrophie

4.3.2 B-Zell-/T-Zellverhältnis

Bei dem Vergleich der Ratio aus CD20⁺- und CD3⁺-Zellen wurde eine Dominanz der T-Lymphozyten gegenüber der B-Lymphozyten vor allem in den späten IFTA Gruppen (NRLI IFTA & RLI IFTA), aber auch bei akuten zellulären Abstoßungen (REI TCMR & RLI TCMR) deutlich. Deutlich erhöhte Werte für T-Lymphozyten konnten wir auch in der frühen IFTA mit vorangegangener Abstoßung (REI IFTA) erkennen.

Die Abbildung 4.11 veranschaulicht die Ergebnisse.

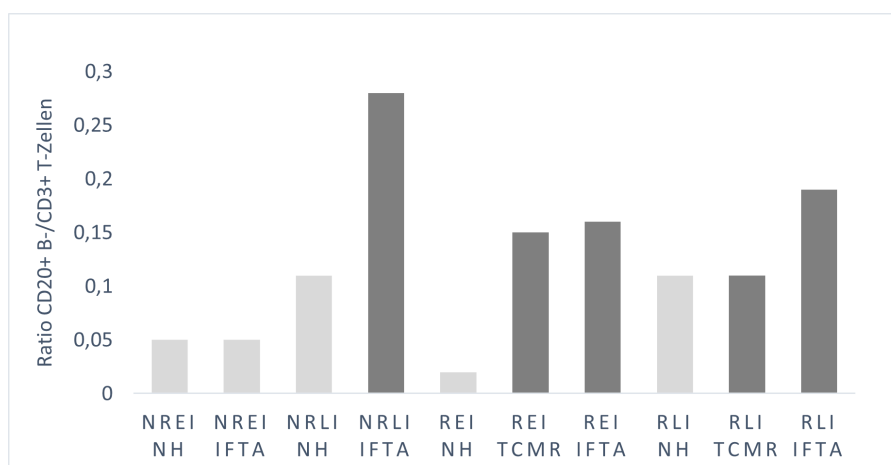


Abbildung 4.11: B-Zell-/T-Zellverhältnis

Verhältnis zwischen der durchschnittlichen Anzahl an infiltrierenden $CD20^+$ B- und $CD3^+$ T-Zellen, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Dunkelgrau hervorgehoben sind die signifikant erhöhten Infiltratmengen an T-Zellen gegenüber B-Zellen.

4.3.3 B-Zell-/Plasmazellverhältnis

einzel

Wir verglichen ebenfalls die Ratio aus $CD20^+$ - und $CD138^+$ -Zellen und stellten fest, dass B-Zellen vornehmlich in den IFTA Gruppen gegenüber den einzelnen Plasmazellen dominierten, unabhängig von vorangegangener Abstoßung (NRLI IFTA, REI IFTA, RLI IFTA). Vor allem in den Biopsien mit normaler Histologie (NRLI NH) und der frühen IFTA mit vorangegangener Abstoßung (REI TCMR) waren die B-Zell-Werte gegenüber den Plasmazell-Werten deutlich erhöht. Die Abbildung 4.12 veranschaulicht die Ergebnisse.

geclustert

Das Vorkommen von B-Zellen gegenüber dem Vorkommen von geclusterten Plasmazellen in Form von Heteroaggregaten dominierte besonders deutlich in der frühen IFTA Gruppe mit vorangegangener Abstoßung (REI IFTA) und in normalen Histologiebefunden der späten IFTA Gruppe (RLI NH). Eine ebenfalls deutliche Dominanz von B-Zellen gegenüber geclusterten Plasmazellen lag in den späten IFTA Gruppen unabhängig von vorangegangener Abstoßung vor (NRLI IFTA & RLI IFTA, NRLI NH). Die Abbildung 4.13 veranschaulicht die Ergebnisse.

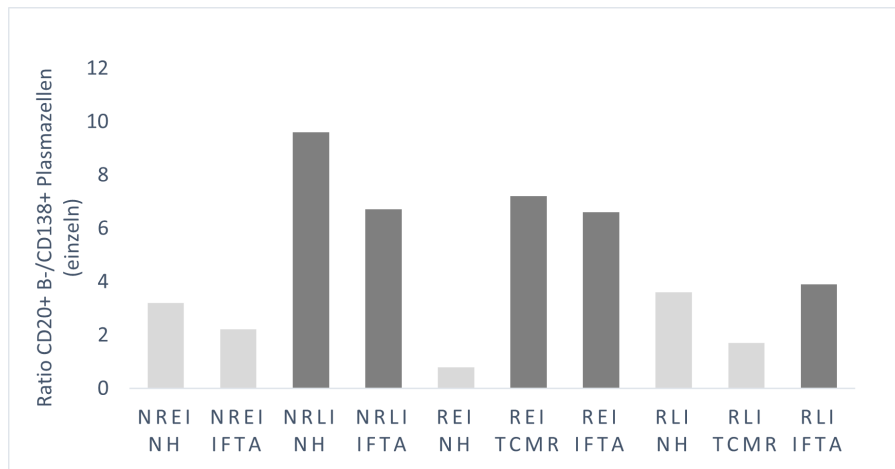


Abbildung 4.12: B-Zell-/Plasmazellverhältnis (einzeln)

Verhältnis zwischen der durchschnittlichen Anzahl an infiltrierenden $CD20^+$ B- und einzelnen $CD138^+$ Plasmazellen, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Dunkelgrau hervorgehoben sind die signifikant erhöhten Infiltratmengen an B-Zellen gegenüber den einzelnen Plasmazellen.

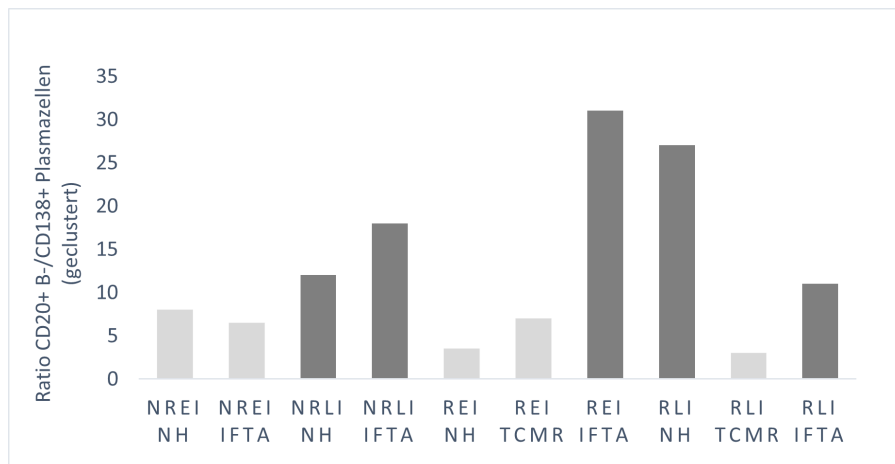


Abbildung 4.13: B-Zell/Plasmazellverhältnis (geclustert)

Verhältnis zwischen der durchschnittlichen Anzahl an infiltrierenden $CD20^+$ B- und geclusterten $CD138^+$ Plasmazellen, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Dunkelgrau hervorgehoben sind die signifikant erhöhten Infiltratmengen an B-Zellen gegenüber den geclusterten Plasmazellen.

4.4 Verteilung der HLA-Mismatches

Wir analysierten zuerst die durchschnittliche Anzahl der HLA-MM innerhalb der 4 Gruppen. Wie in Abbildung 4.14 zu erkennen ist, zeigten Patienten mit akuten zellulären Abstoßungen im Schnitt eine deutlich höhere Anzahl an HLA-MM (REI: 3,8 & RLI: 3,4 HLA-MM versus NREI: 3,1 & NRLI: 2,5 HLA-MM). Anschließend teilten wir zusätzlich die Matchgrade in 2 Untergruppen auf: HLA-MM 0-3 stellten die geringsten und für eine Transplantation günstigsten Matchgrade dar und HLA-MM 4-6 symbolisierten die höchsten und für eine Transplantation ungünstigsten Matchgrade. Die Abbildung 4.15 veranschaulicht die Ergebnisse.

Deutlich wird, dass die höchste Anzahl an HLA-MM (4-6) bei Patienten mit akuten zellulären Abstoßungen (REI & RLI, vor allem aber REI) vorlagen: REI: 15 & RLI: 8 Patienten mit HLA-MM 4-6 versus NREI: 4 & NRLI: 4 Patienten mit HLA-MM 4-6. Die niedrigste Anzahl an HLA-MM (0-3) zeigten Patienten aus späten IFTA Gruppen (NRLI & RLI, vor allem aber NRLI): NRLI: 11 & RLI: 9 Patienten mit HLA-MM 0-3 versus REI: 8 & NREI: 7 Patienten mit HLA-MM 0-3.

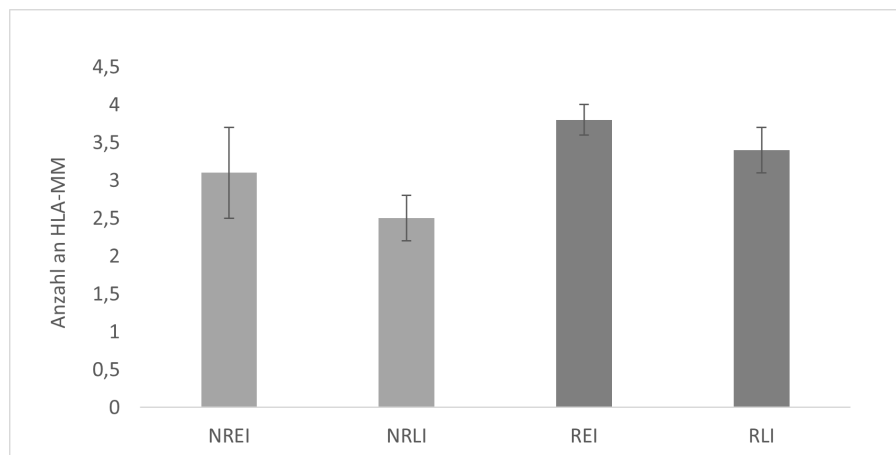


Abbildung 4.14: Anzahl an HLA-MM

Durchschnittliche Anzahl an HLA-MM 0-6, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

NREI: keine Abstoßung, frühe IFTA; NRLI: keine Abstoßung, späte IFTA;

REI: Abstoßung, frühe IFTA; RLI: Abstoßung, späte IFTA; NH: normale Histologie;

TCMR: T-Zell-vermittelte Abstoßung; IFTA: interstitielle Fibrose/tubuläre Atrophie;

HLA-MM: Fehlanpassung der humanen Leukozytenantigene

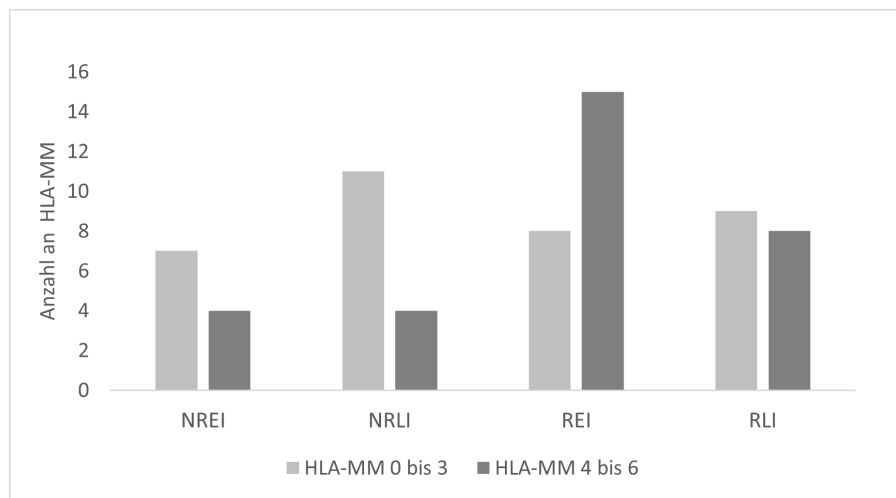


Abbildung 4.15: Anzahl an HLA-MM (0-3 und 4-6)

Anzahl an HLA-MM 0-3 und 4-6, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen.

Korrelation mit CD20⁺ B-Zellen

Abschließend korrelierten wir die durchschnittliche Anzahl an CD20⁺ B-Zellen/mm² mit den einzelnen Anzahlen an HLA-MM (0-6), wobei 0 erneut den für eine Transplantation günstigsten und 6 den für eine Transplantation ungünstigsten Matchgrad darstellten. Aus der Abbildung 4.16 wird deutlich, dass Patienten mit HLA-MM 0 bis 3 eine wesentlich geringere Anzahl an durchschnittlichen B-Zellen/mm² zeigten, als Patienten mit HLA-MM 4 bis 6 (49,75 versus 124 CD20⁺ B-Zellen/mm²). Signifikant erhöht waren die B-Lymphozyten beim Matchgrad 6.

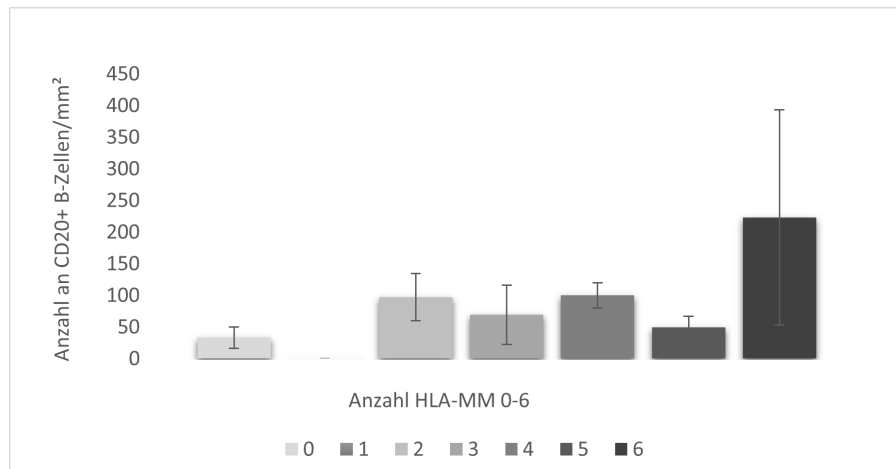


Abbildung 4.16: CD20⁺ B-Zellen und HLA-MM 0-6

Durchschnittliche Anzahl an CD20⁺ B-Zellen/mm² in Korrelation mit der Anzahl der HLA-MM 0-6. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

4.5 Vorimmunisierungen

Wir schauten uns innerhalb der 4 stratifizierten Gruppen die Vorimmunisierungen anhand vorkommender Panel-reaktiver Antikörper (PRA in %) an. Damit konnten wir die Immunreaktion der einzelnen Patienten auf die Spenderniere prä transplantationem prüfen und eine grobe Risikoeinschätzung bezüglich einer Abstoßungsreaktion geben. Pro Gruppe unterschieden wir nochmals in einen PRA-Höchstwert und in einen aktuellen PRA-Wert. Der PRA-Höchstwert gab dabei den höchsten, jemals gemessenen PRA-Wert an. Der aktuelle PRA-Wert gab den während des letzten Screenings im Quartal vor der Transplantation gemessenen PRA-Wert an. Abschließend unterteilten wir den PRA-Wert nochmals in PRA 0% und PRA >1%. Wobei ein PRA von 0% bedeutete, dass das Empfängerserum mit keiner Spenderprobe reagiert hat.

PRA-Höchstwert

In Abbildung 4.17 sind die Ergebnisse für die durchschnittlichen PRA-Höchstwerte dargestellt. Sichtbar ist, dass in den frühen IFTA Gruppen (NREI & REI), vor allem aber in der frühen IFTA Gruppe mit vorheriger Abstoßung (REI) deutlich höhere jemals gemessene Höchstwerte dokumentiert wurden (REI: 22% & NREI: 16% gegenüber NRLI: 15% & RLI: 15%).

Die Abbildung 4.18 stellt zusätzlich die Einteilung nach PRA 0% & PRA >1% dar und zeigt die Anzahl an Patienten mit einer entsprechenden Vorimmunisierung. Hieraus konnten wir entnehmen, dass zwar häufiger Patienten mit akut zellulären

Abstoßungen (REI & RLI) einen PRA von 0% hatten (REI: 16 & RLI: 13 Patienten versus NRLI: 11 & NREI: 8 Patienten), aber gleichzeitig auch die höchsten PRA-Werte für eine Vorimmunsisierung zeigten (PRA >1%): REI: 9 & RLI: 5 Patienten versus NRLI: 4 & NREI: 3 Patienten. Besonders sensibilisiert waren Patienten der frühen IFTA Gruppe mit vorangegangener Abstoßung (REI).

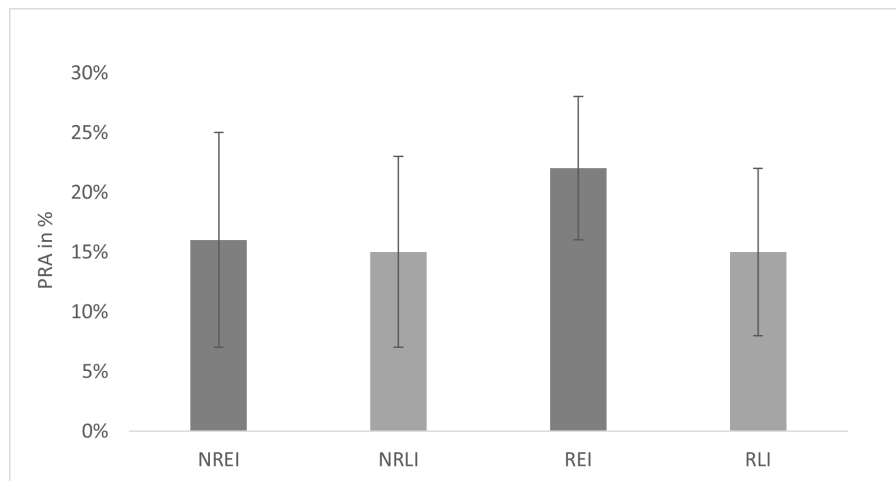


Abbildung 4.17: Vorimmunsisierung (PRA-Höchstwert)

Vorimmunsisierung anhand von durchschnittlichen PRA-Höchstwerten, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

NREI: keine Abstoßung, frühe IFTA; NRLI: keine Abstoßung, späte IFTA;

REI: Abstoßung, frühe IFTA; RLI: Abstoßung, späte IFTA; IFTA: interstitielle Fibrose/tubuläre Atrophie; PRA: Panel-reaktive Antikörper

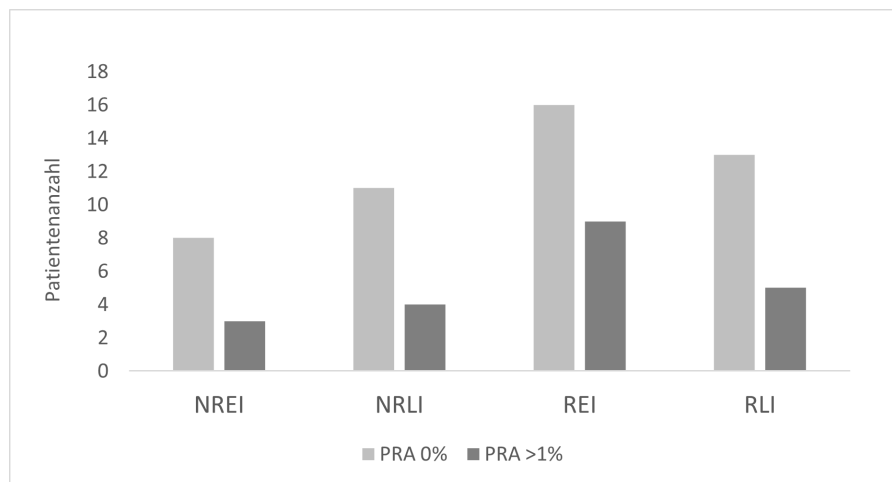


Abbildung 4.18: Vorimmunsisierung (PRA-Höchstwert: 0% und >1%)

Anzahl an Patienten mit einer Vorimmunsisierung anhand von PRA-Höchstwerten, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und unterteilt in PRA 0% und PRA >1%.

Aktueller PRA-Wert

In Abbildung 4.19 sind die Ergebnisse für die durchschnittlichen aktuellen PRA-Werte dargestellt. Sichtbar ist, dass auch hier in den frühen IFTA Gruppen (NREI & REI), vor allem aber in der frühen IFTA Gruppe mit vorheriger Abstoßung (REI) deutlich höhere Werte im letzten Screening im Quartal vor der Nierentransplantation gemessen wurden (REI: 14% & NREI: 10% gegenüber RLI: 6% & NRLI: 4%).

Die Abbildung 4.20 stellt zusätzlich die Einteilung nach PRA 0% & PRA >1% dar und zeigt die Anzahl an Patienten mit einer entsprechenden Vorimmunsisierung. Hieraus konnten wir entnehmen, dass zwar häufiger Patienten mit akut zellulären Abstoßungen (REI & RLI) einen PRA von 0% hatten (REI: 17 & RLI: 15 Patienten versus NRLI: 12 & NREI: 8 Patienten), aber gleichzeitig auch die höchsten PRA-Werte für eine Vorimmunsisierung zeigten (PRA >1%): REI: 8 & RLI: 3 Patienten versus NRLI: 3 & NREI: 2 Patienten. Besonders sensibilisiert waren hierbei Patienten der frühen IFTA Gruppe mit vorangegangener Abstoßung (REI).

Korrelation mit CD20⁺ B-Zellen

Abschließend betrachteten wir erneut eine mögliche Korrelation zwischen dem Vorkommen von B-Zellen in Transplantaten und einer Vorimmunsisierung der Patienten und stellten fest, dass erhöhte Mengen an CD20⁺ B-Zellen/mm² vornehmlich in der späten IFTA Gruppe (RLI), gemeinsam mit einer erhöhten Vorimmunsisierung (PRA >1%), detektiert wurden.

Die Abbildungen 4.21 und 4.22 veranschaulichen die Ergebnisse.

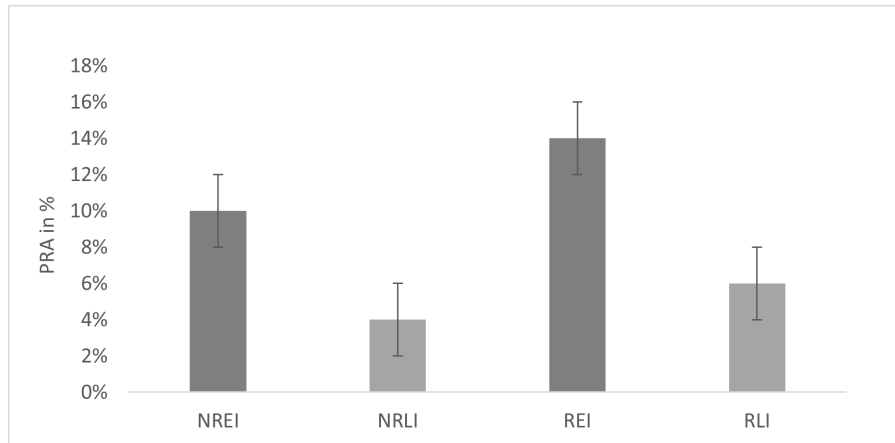


Abbildung 4.19: Vorimmunisierung (aktueller PRA-Wert)

Vorimmunisierung anhand von durchschnittlichen aktuellen PRA-Werten, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

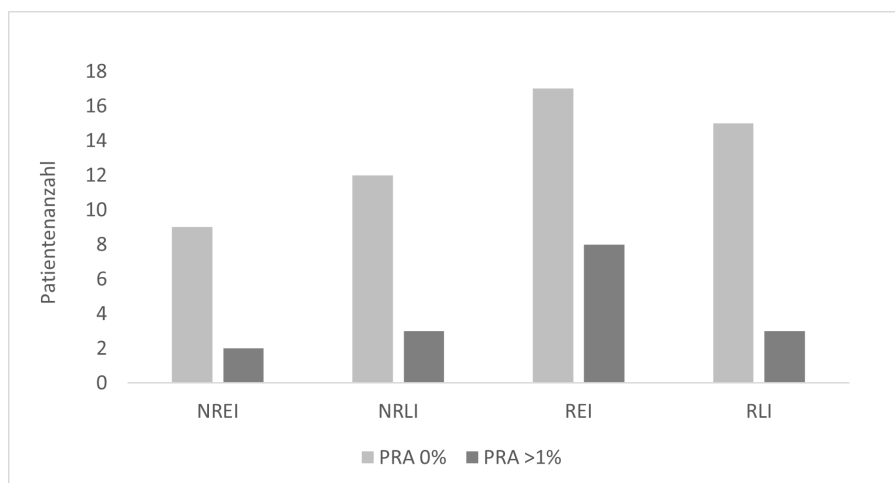


Abbildung 4.20: Vorimmunisierung (aktueller PRA-Wert: 0% und >1%)

Anzahl an Patienten mit einer Vorimmunisierung anhand von aktuellen PRA-Werten, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und unterteilt in PRA 0% und PRA >1%.

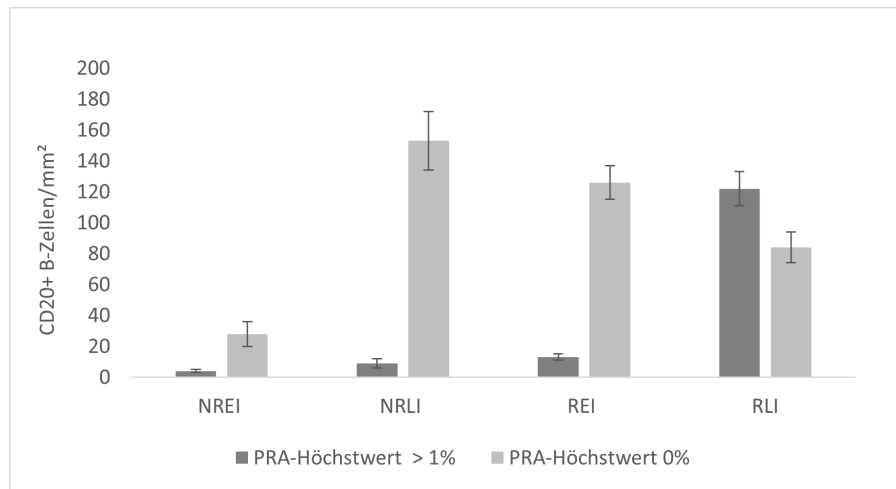


Abbildung 4.21: CD20⁺ B-Zellen und Vorimmunsierung (PRA-Höchstwert)

Korrelation zwischen einer Vorimmunsierung anhand von PRA-Höchstwerten und der durchschnittlichen Anzahl an CD20⁺ B-Zellen/mm², quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und unterteilt in PRA 0% und PRA >1%. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

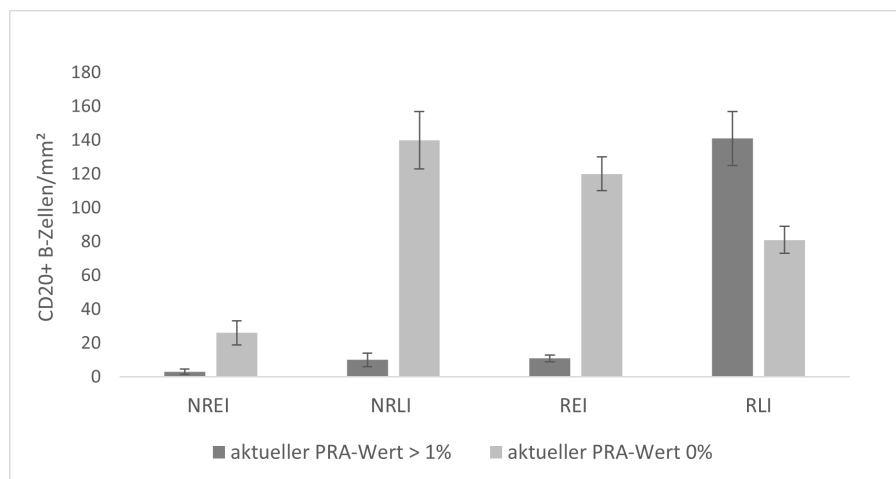


Abbildung 4.22: CD20⁺ B-Zellen und Vorimmunsierung (aktueller PRA-Wert)

Korrelation zwischen einer Vorimmunsierung anhand von aktuellen PRA-Werten und der durchschnittlichen Anzahl an CD20⁺ B-Zellen/mm², quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und unterteilt in PRA 0% und PRA >1%. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

4.6 Auftreten von Donor-spezifischen Antikörpern

Die Abbildung 4.23 veranschaulicht, dass innerhalb der 4 stratifizierten Gruppen mit insgesamt 69 Patienten für nur 20 Patienten geeignetes Material zur Verfügung stand. Bei 49 Patienten (71%) gab es keinen Hinweis auf DSA (kein DSA). 3 Patienten (4%) hatten bereits vor der Transplantation nicht Donor-spezifische Antikörper (nonDSA preTX), 5 Patienten (7%) zeigten DSA aus einer bereits vorangegangenen Transplantation (DSA aus 1.TX) und 12 Patienten (18%) entwickelten dnDSA post transplantationem (dnDSA postTX). Bei dem genaueren Betrachten der 20 geeigneten Patienten ergab sich, wie in der Abbildung 4.24 zu erkennen ist, dass 3 davon (15%) nonDSA bereits vor der Transplantation zeigten, 5 davon (25%) DSA aus einer vorherigen Transplantation hatten und ganze 12 Patienten (60%) dnDSA erst nach der Nierentransplantation entwickelten.

Die spezifische DSA-Verteilung innerhalb der einzelnen Gruppen ist in der Abbildung 4.25 dargestellt.

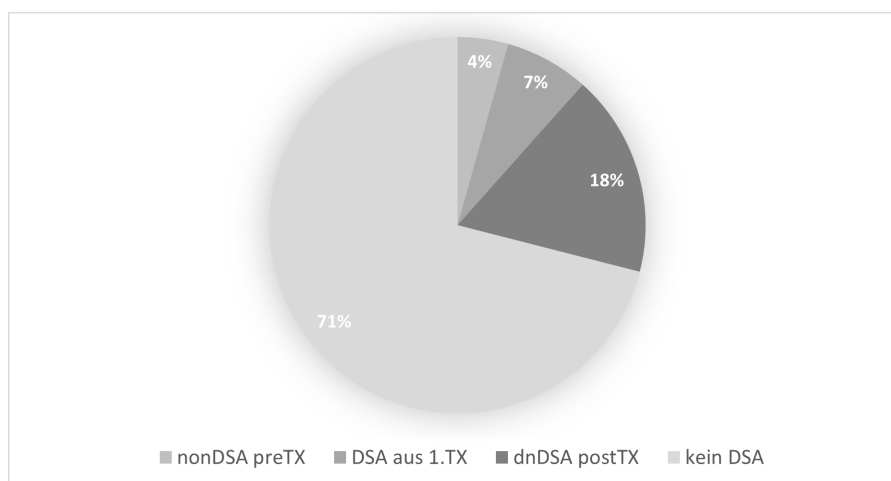


Abbildung 4.23: Patientenverteilung mit/ohne DSA

Verteilung der Patienten mit/ohne DSA innerhalb der stratifizierten Gruppen. Die Daten sind in % dargestellt.

DSA: Donor-spezifische Antikörper; nonDSA: nicht Donor-spezifische Antikörper; dnDSA: de novo Donor-spezifische Antikörper; TX: Transplantation; postTX: nach der Transplantation; preTX: vor der Transplantation

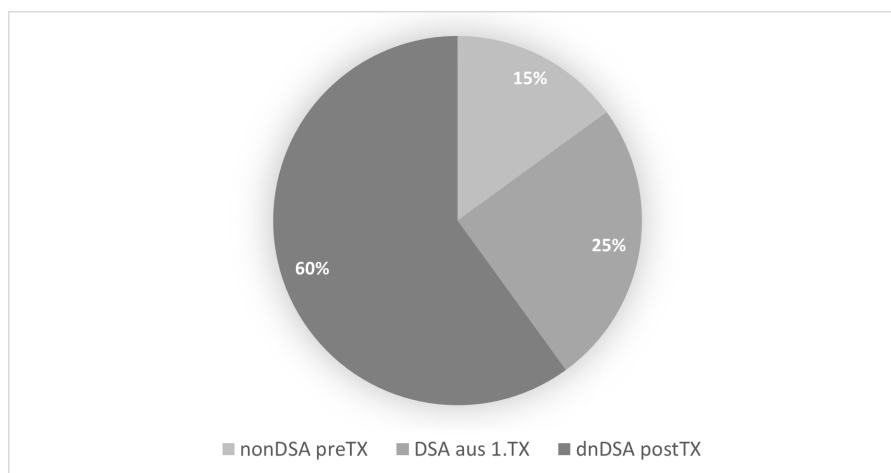


Abbildung 4.24: Patientenverteilung mit DSA

Verteilung der Patienten mit DSA innerhalb der stratifizierten Gruppen. Die Daten sind in % dargestellt.

NREI

Innerhalb der frühen IFTA Gruppe, ohne vorangegangene Abstoßung, entwickelten 8 Patienten (73%) kein DSA, kein Patient (0%) brachte DSA aus einer vorherigen Transplantation mit, 2 Patienten (18%) hatten bereits nonDSA vor der Transplantation und nur ein Patient (9%) entwickelte dnDSA nach der Transplantation.

NRLI

Innerhalb der späten IFTA Gruppe, ohne vorangegangene Abstoßung, entwickelten 10 Patienten (67%) kein DSA, 2 Patienten (13%) brachten DSA aus einer vorherigen Transplantation mit, kein Patient (0%) hatte bereits nonDSA vor der Transplantation und 3 Patienten (20%) entwickelten dnDSA nach der Transplantation.

REI

Innerhalb der frühen IFTA Gruppe, mit vorangegangener Abstoßung, entwickelten ganze 19 Patienten (76%) kein DSA, 3 Patienten (12%) brachten DSA aus einer vorherigen Transplantation mit, 1 Patient (4%) hatte bereits nonDSA vor der Transplantation und nur 2 Patienten (8%) entwickelten dnDSA nach der Transplantation.

RLI

Innerhalb der späten IFTA Gruppe, mit vorangegangener Abstoßung, entwickelten ganze 12 Patienten (67%) kein DSA, kein Patient (0%) brachte DSA aus einer vorherigen Transplantation mit, kein Patient (0%) hatte bereits nonDSA vor der

Transplantation und ganze 6 Patienten (33%) entwickelten dnDSA nach der Transplantation.

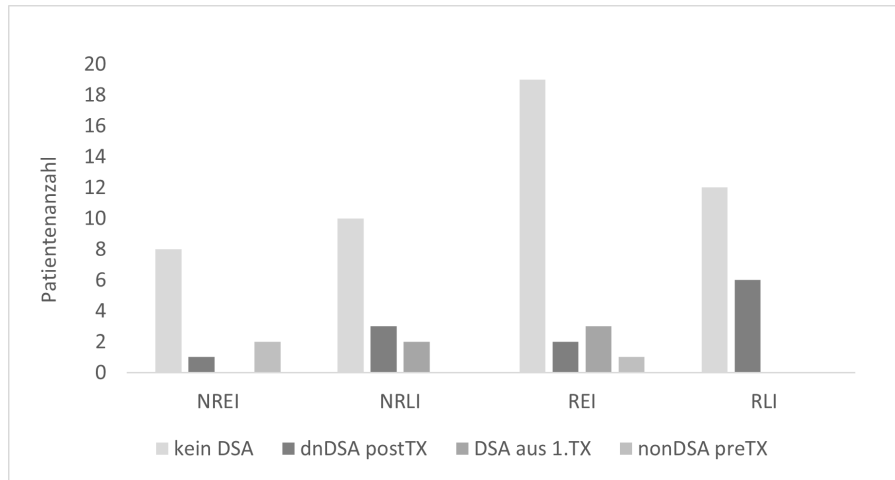


Abbildung 4.25: Spezifische DSA-Verteilung

Spezifische DSA-Verteilung anhand der Patientenanzahl, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen.

NREI: keine Abstoßung, frühe IFTA; NRLI: keine Abstoßung, späte IFTA;

REI: Abstoßung, frühe IFTA; RLI: Abstoßung, späte IFTA; IFTA: interstitielle Fibrose/tubuläre Atrophie

Korrelation mit CD20⁺ B-Zellen

In einer letzten Analyse korrelierten wir erneut die durchschnittliche Anzahl der CD20⁺ B-Zellen/mm² in Transplantaten in den 4 stratifizierten Gruppen mit dem Auftreten von DSA. Die Abbildung 4.26 zeigt, dass der Nachweis von dnDSA nach der Transplantation in den späten IFTA Gruppen (NRLI & RLI) mit signifikant erhöhten Mengen infiltrierender B-Lymphozyten assoziiert war (NRLI: 122 & RLI: 83 CD20⁺ B-Zellen/mm² versus NREI: 0 & REI: 3 CD20⁺ B-Zellen/mm²).

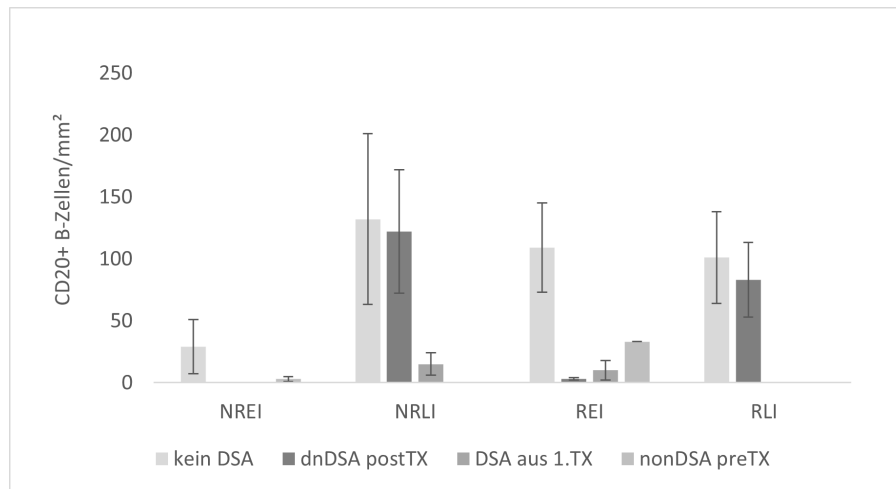


Abbildung 4.26: CD20⁺ B-Zellen und DSA

Durchschnittliche Anzahl an CD20⁺ B-Zellen/mm² in Korrelation mit der spezifischen DSA-Verteilung, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

4.7 Transplantatüberleben

Wir untersuchten das Transplantatüberleben nach der Transplantation. In der Abbildung 4.27 ist der Anteil der funktionierenden Organe in den einzelnen Gruppen über einen Zeitraum von bis zu 16 Jahren nach der Nierentransplantation aufgeführt. Deutlich erkennbar ist, dass Patienten der frühen IFTA Gruppen (NREI & REI) ein deutlich geringeres Transplantatüberleben zeigten als Patienten der späten IFTA Gruppen (NRLI & RLI). Dieser Aspekt wird in der Abbildung 4.28 noch weiter verdeutlicht: das durchschnittliche Gesamttransplantatüberleben war in den späten IFTA Gruppen deutlich höher (NRLI: 76 & RLI: 77 Monate gegenüber REI: 59 & NREI: 52 Monate).

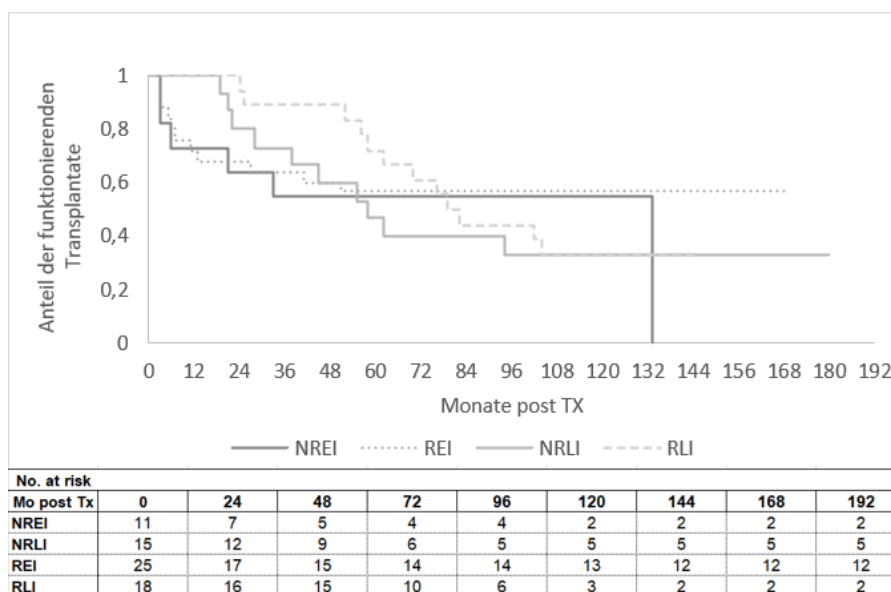


Abbildung 4.27: Transplantatüberleben

Transplantatüberleben, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt.

NREI: keine Abstoßung, frühe IFTA; NRLI: keine Abstoßung, späte IFTA;

REI: Abstoßung, frühe IFTA; RLI: Abstoßung, späte IFTA; IFTA: interstitielle Fibrose/tubuläre Atrophie; postTX: nach der Transplantation

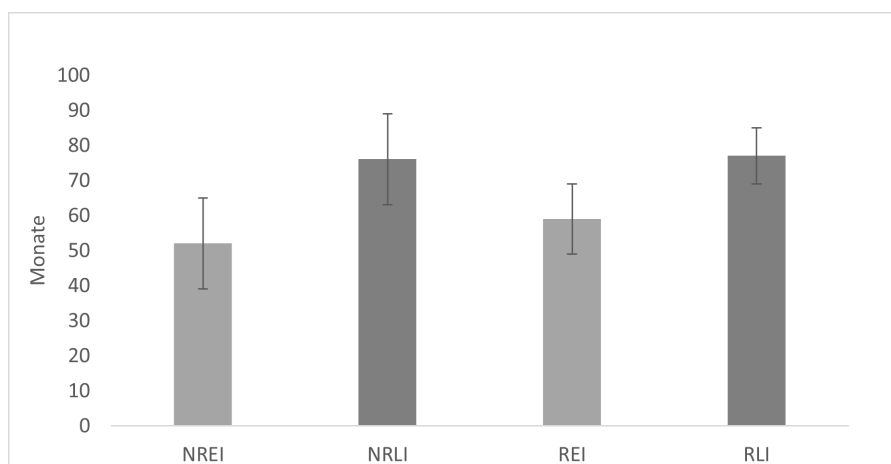


Abbildung 4.28: Gesamttransplantatüberleben

Durchschnittliches Gesamttransplantatüberleben, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

Innerhalb der Nachbeobachtungszeit

Innerhalb der Nachbeobachtungszeit entwickelten 46% (NREI), 67% (NRLI), 32% (REI) und 67% (RLI) ein Transplantatversagen mit der damit verbundenen Notwendigkeit einer Re-Dialyse: also vornehmlich Patienten aus den späten IFTA Gruppen (NRLI & RLI). Die Abbildung 4.29 stellt diesen Aspekt grafisch dar.

Des Weiteren wird ersichtlich, dass 18% (NREI), 0% (NRLI), 12% (REI) und 0% (RLI), also hauptsächlich Patienten der frühen IFTA Gruppen (NREI & REI), bereits eine primäre Nonfunktion des Transplantats zeigten. 18% (NREI), 33% (NRLI), 48% (REI) und 11% (RLI) hatten innerhalb des gesamten Nachbeobachtungszeitraums ein funktionierendes Organ und 18% (NREI), 0% (NRLI), 8% (REI) und 22% (RLI) verstarben währenddessen mit einem funktionierendem Organ.

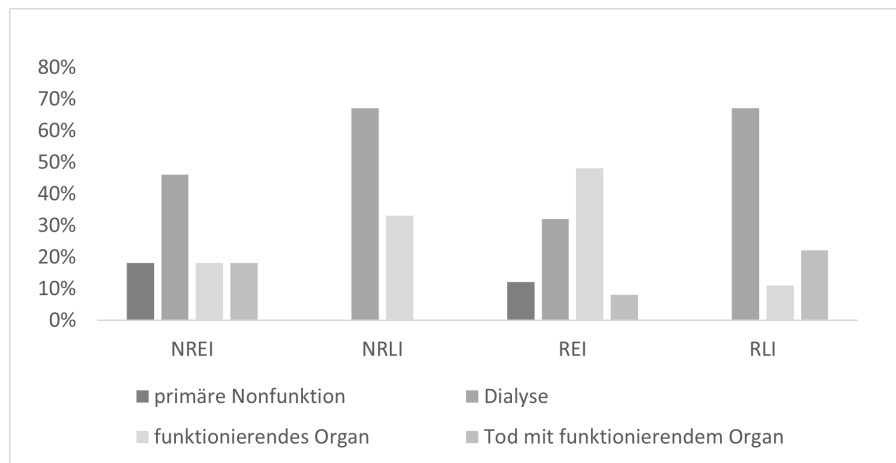


Abbildung 4.29: Transplantatentwicklung

Transplantatentwicklung innerhalb der Nachbeobachtungszeit, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen. Die Daten sind in % dargestellt.

Bei Notwendigkeit einer Re-Dialyse

Wir analysierten zusätzlich genauer das Transplantatüberleben innerhalb der stratifizierten Gruppen bei Patienten mit Dialysepflicht innerhalb der Nachbeobachtungszeit. Die Abbildungen 4.30 und 4.31 veranschaulichen die Ergebnisse. Es wird deutlich, dass bei Patienten mit definitivem Transplantatversagen (und Notwendigkeit einer Re-Dialyse) das Transplantatüberleben bis zu einem Versagen in den frühen IFTA Gruppen (NREI & REI) durchschnittlich signifikant kürzer war als in den späten IFTA Gruppen (NREI: 35 & REI: 16 Monate gegenüber RLI: 66 & NRLI: 44 Monate).

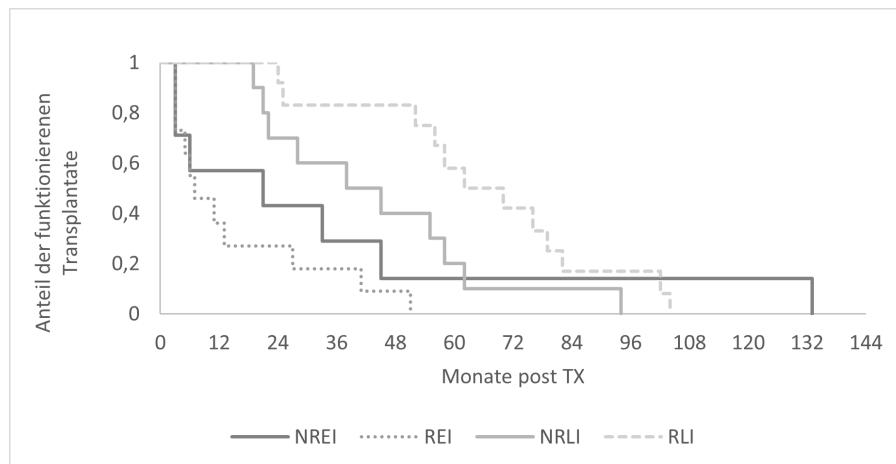


Abbildung 4.30: Transplantatüberleben (Re-Dialyse)

Transplantatüberleben bei Patienten mit Notwendigkeit zu einer Re-Dialyse, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt.

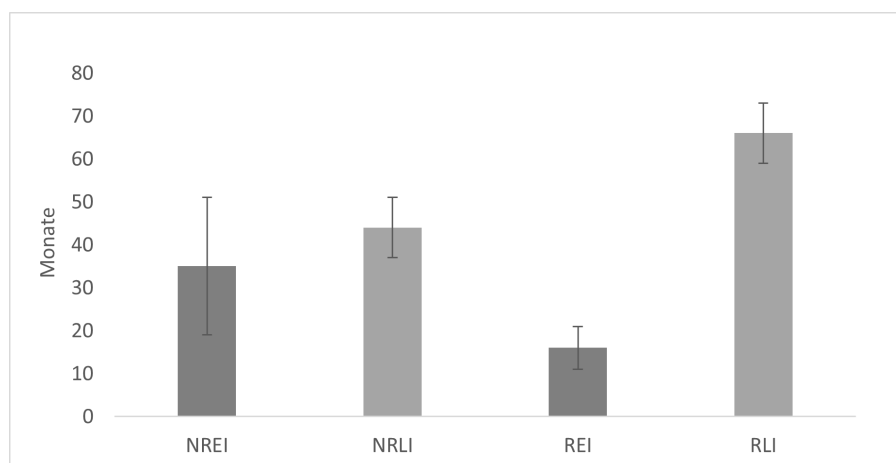


Abbildung 4.31: Gesamttransplantatüberleben (Re-Dialyse)

Durchschnittliches Gesamttransplantatüberleben bei Notwendigkeit zu einer Re-Dialyse, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

Korrelation mit CD20⁺ B-Zellen

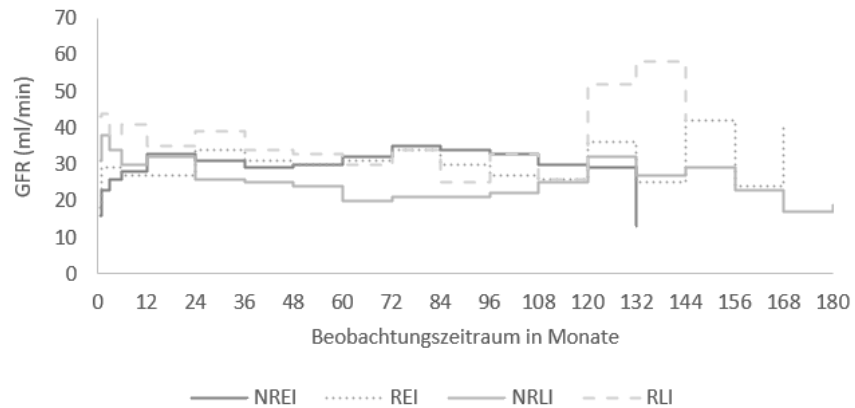
In einer letzten Analyse korrelierten wir die durchschnittliche Anzahl der B-Lymphozyten/mm² in Transplantaten innerhalb der 4 stratifizierten Gruppen mit unseren Ergebnissen bezüglich des Transplantatüberlebens. Wie wir bereits wussten, kamen signifikant erhöhte Mengen infiltrierender B-Zellen vor allem in den späten IFTA Gruppen (NRLI & RLI) vor. Diese korrelierten anhand unserer Ergebnisse erstaunlicherweise mit einem höheren durchschnittlichen Gesamttransplantatüberleben. Gleichzeitig aber auch mit einer durchschnittlich häufigeren Entwicklung eines Transplantatversagens innerhalb der Nachbeobachtungszeit und einer damit verbundenen Notwendigkeit zu einer Re-Dialyse. Bei Patienten mit einem definitiven Transplantatversagen und der Notwendigkeit zu einer Re-Dialyse, korrelierte eine erhöhte Menge an B-Zellen wiederum nicht mit einem frühzeitigen Versagen.

4.8 Transplantatfunktion

Wir dokumentierten und interpretierten bei unseren Patienten die Funktion des Allotransplantats nach der Nierentransplantation anhand der vorhandenen GFR. In der Abbildung 4.32 sind die durchschnittlichen GFR-Werte in ml/min der einzelnen Gruppen über einen Zeitraum von bis zu 15 Jahren nach der Nierentransplantation dargestellt. In den Abbildungen 4.33 und 4.34 sind die GFR-slopes zusätzlich übersichtshalber getrennt nach späten und frühen IFTA Gruppen dargestellt. Deutlich erkennbar wird hierbei, dass Patienten der frühen IFTA Gruppen (NREI & REI) nicht nur ein deutlich geringeres Transplantatüberleben, sondern damit verbunden, auch eine signifikant schlechtere Nierentransplantatfunktion zeigten. Dieser Aspekt wird besonders deutlich, wenn man die angegebenen GFR-Werte 6 Monate post transplantationem miteinander vergleicht. Diese waren in den frühen IFTA Gruppen (NREI & REI) signifikant schlechter als in den späten IFTA Gruppen (NRLI & RLI): NREI: 28 & REI: 27 ml/min versus NRLI: 30 & RLI: 41 ml/min.

Verzögerte Transplantatfunktion

Des Weiteren schauten wir, ob eine Verzögerung der Transplantatfunktion festgestellt wurde. Die Abbildung 4.35 veranschaulicht unsere Ergebnisse: eine verzögerte Nierentransplantatfunktion trat vor allem bei Patienten aus den frühen IFTA Gruppen (NREI & REI) auf (NREI: 64% & REI: 36% versus NRLI: 13% & RLI: 17%).



No. at risk									
Mo post Tx	0	24	48	72	96	120	144	168	180
NREI	11	7	6	4	4	3	0	0	0
NRLI	15	14	9	6	6	4	3	2	1
REI	25	17	15	14	14	13	12	12	12
RLI	18	18	15	11	6	3	2	1	2

Abbildung 4.32: Transplantatfunktion

Durchschnittliche Transplantatfunktion anhand von GFR-Werten in ml/min, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt.

NREI: keine Abstoßung, frühe IFTA; NRLI: keine Abstoßung, späte IFTA; REI: Abstoßung, frühe IFTA; RLI: Abstoßung, späte IFTA; IFTA: interstitielle Fibrose/tubuläre Atrophie; GFR: glomeruläre Filtrationsrate

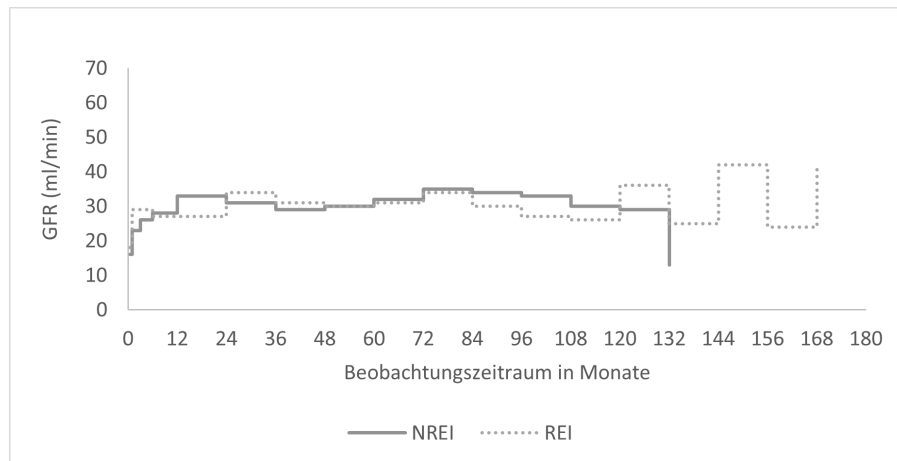


Abbildung 4.33: Transplantatfunktion (NREI und REI)

Durchschnittliche Transplantatfunktion anhand von GFR-Werten in ml/min (NREI & REI), quantifiziert nach stratifizierten Gruppen. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt.

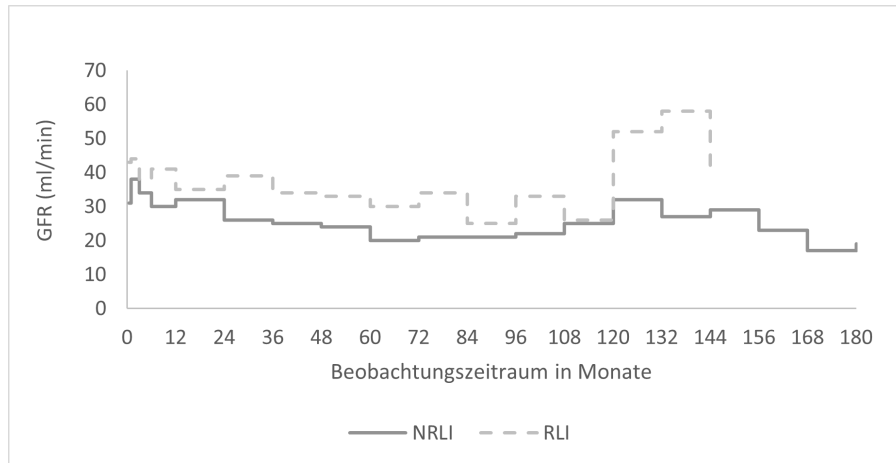


Abbildung 4.34: Transplantatfunktion (NRI und RLI)

Durchschnittliche Transplantatfunktion anhand von GFR-Werten in ml/min (NRI & RLI), quantifiziert nach stratifizierten Gruppen. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt.

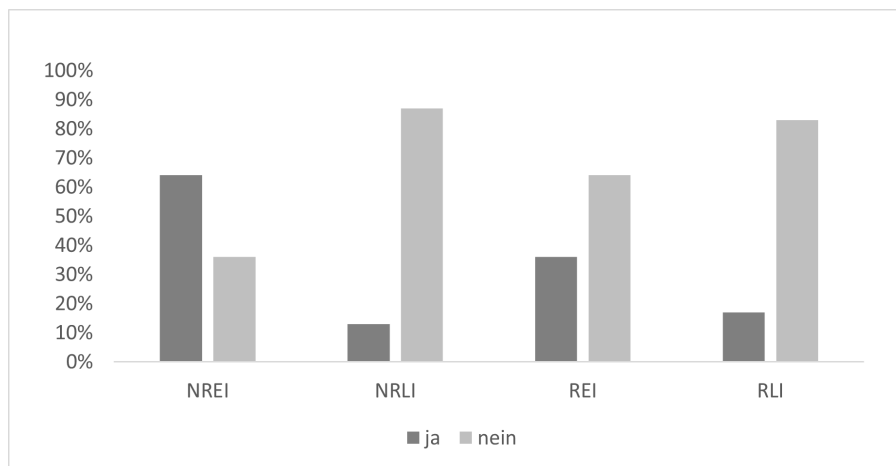


Abbildung 4.35: Verzögerte Transplantatfunktion

Verzögerte Transplantatfunktion, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen. Die Daten sind in % dargestellt.

Korrelation mit CD20⁺ B-Zellen

In einer letzten Analyse korrelierten wir die durchschnittliche Anzahl der B-Lymphozyten/mm² in Transplantaten mit unseren Ergebnissen bezüglich der Transplantatfunktion. Auch hier korrelierten erstaunlicherweise die signifikant erhöhten Mengen infiltrierender B-Zellen in den späten IFTA Gruppen (NRLI & RLI) mit einer besseren durchschnittlichen Nierentransplantatfunktion, gleichzeitig aber auch mit einer deutlich seltener auftretenden Verzögerung der Transplantatfunktion.

4.9 Intrarenale BAFF-Expression

Wir stellten in unseren vorangegangenen Analysen fest, dass eine signifikante Dominanz von B- und Plasmazellen in den späten IFTA Biopsien zu erkennen war. Aufgrunddessen suchten wir konträr zu der alleinigen Lymphozyteneinwanderung nach einem möglichen Auslöser. Hierbei konzentrierten wir uns auf die BAFF-Expression im Nierentransplantat, da der B-Zell-Aktivierungsfaktor bekanntermaßen als Schlüsselfaktor im Rahmen der B-Zell-Differenzierung und -Proliferation fungiert.

Wir untersuchten zunächst die BAFF-Expressionswerte innerhalb der stratifizierten Gruppen in den einzelnen Nierengeweben: in den Glomeruli, auf den tubulären Zellen, interstitiell einzeln und interstitiell in den Tubuli. Dabei entdeckten wir BAFF auf den tubulären Zellen, interstitiell einzeln und interstitiell in den Tubuli vorkommend und insbesondere in Biopsien, welche innerhalb der ersten 3 Monate nach der Transplantation entnommen wurden. Die BAFF-Expression war vor allem auf tubulären Epithelzellen (tubuläre Zellen) und gering auch auf Zellen, die in das Tubulusinterstitium einwandern (interstitiell in Tubuli) ausgeprägt. Glomerulär hingegen konnten wir keinerlei BAFF-Expression detektieren und interstitiell einzeln nur sehr wenig. Die höchsten BAFF-Expressionswerte fanden wir in Biopsien mit normaler Histologie in den frühen IFTA Gruppen (NREI NH: 64 & REI NH: 28 BAFF-positive, tubuläre Zellen) und, wenn auch deutlich weniger, ebenfalls in den späten IFTA Gruppen (NRLI NH: 22 & RLI NH: 9 BAFF-positive, tubuläre Zellen). Auch in Biopsien mit akuter T-Zell-vermittelter Abstoßung (REI TCMR & RLI TCMR), sowohl in den frühen als auch in den späten IFTA Gruppen, wurde BAFF vermehrt exprimiert. Die niedrigsten BAFF-Expressionswerte konnten wir in den IFTA Biopsien nachweisen (NREI IFTA: 0 & NRLI IFTA: 3 & REI IFTA: 5 BAFF-positive, tubuläre Zellen), wobei hierbei in der späten IFTA Gruppe mit vorheriger Abstoßung (RLI IFTA: 12 BAFF-positive, tubuläre Zellen) die höchsten BAFF-Werte gemessen werden konnten.

Die Abbildungen 4.36 und 4.37 veranschaulichen die Ergebnisse.

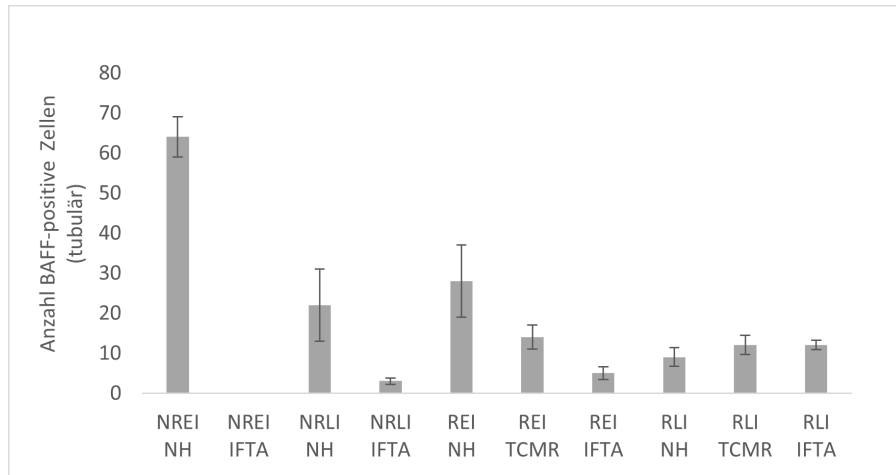


Abbildung 4.36: BAFF-Expression (tubuläre Zellen)

BAFF-Expression in tubulären Zellen, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

NREI: keine Abstoßung, frühe IFTA; NRLI: keine Abstoßung, späte IFTA;
 REI: Abstoßung, frühe IFTA; RLI: Abstoßung, späte IFTA; NH: normale Histologie;
 TCMR: T-Zell-vermittelte Abstoßung; IFTA: interstitielle Fibrose/tubuläre Atrophie;
 BAFF: B-Zell-Aktivierungsfaktor

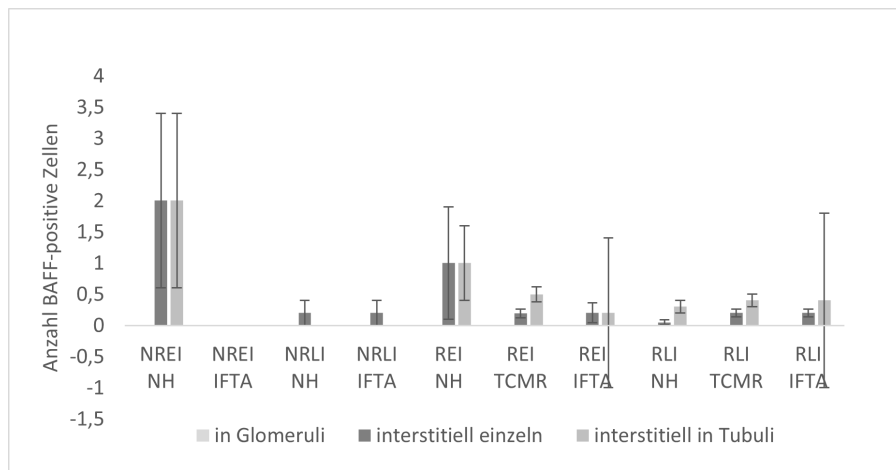


Abbildung 4.37: BAFF-Expression (in Glomeruli, interstitiell einzeln, interstitiell in Tubuli)

BAFF-Expression in Glomeruli, interstitiell einzeln und interstitiell in Tubuli, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

Korrelation mit CD20⁺ B-Zellen

In der Abbildung 4.38 wird die Korrelation zwischen der durchschnittlichen Anzahl an B-Zellen in Transplantaten und der Expression von BAFF auf tubulären Zellen dargestellt. Zu erkennen ist hier, dass BAFF eine hohe Affinität zu B-Lymphozyten zeigte, was wiederum mit dem Aspekt vereinbar ist, dass der B-Zell-Aktivierungsfaktor für eine normale B-Zell-Entwicklung benötigt wird. Eine signifikante Hochregulierung der BAFF-Serumspiegel konnten wir während den früh-chronischen Veränderungen feststellen (NREI & REI). Beachtet man zusätzlich, dass BAFF unter anderem von Makrophagen produziert wird und diese ebenfalls vornehmlich (wie in der Abbildung 4.5 erkennbar ist) in Biopsien mit NH und TCMR nachgewiesen werden konnten, so wird verständlich warum auch die BAFF-Expressionswerte in diesen Biopsien signifikant erhöht waren.

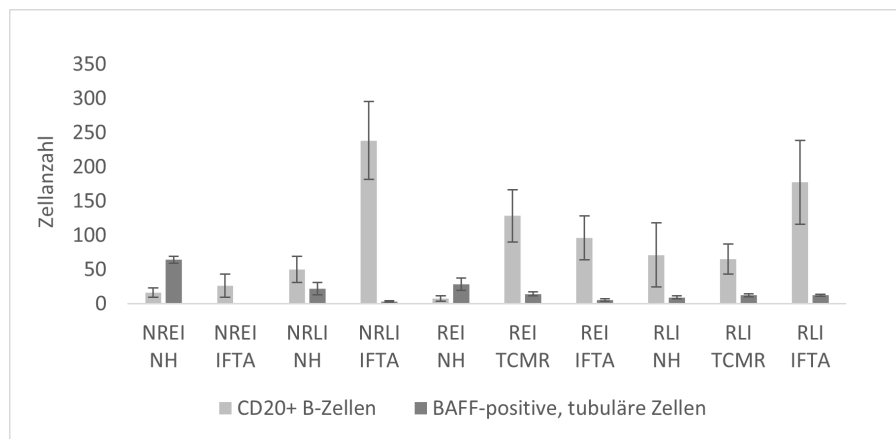


Abbildung 4.38: CD20⁺ B-Zellen und BAFF-Expression (tubuläre Zellen)
BAFF-Expression (auf tubulären Zellen) in Korrelation mit der durchschnittlichen Anzahl an CD20⁺ B-Zellen, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

Korrelation mit CD138⁺ Plasmazellen

In den Abbildungen 4.39 und 4.40 sind die Korrelationen zwischen der durchschnittlichen Anzahl an Plasmazellen in Transplantaten und der Expression von BAFF in den einzelnen Kompartimenten (glomerulär und interstitiell) dargestellt. Zu erkennen ist hier, dass BAFF eine deutlich geringere Affinität zu den Plasmazellen zeigte als zu den B-Zellen.

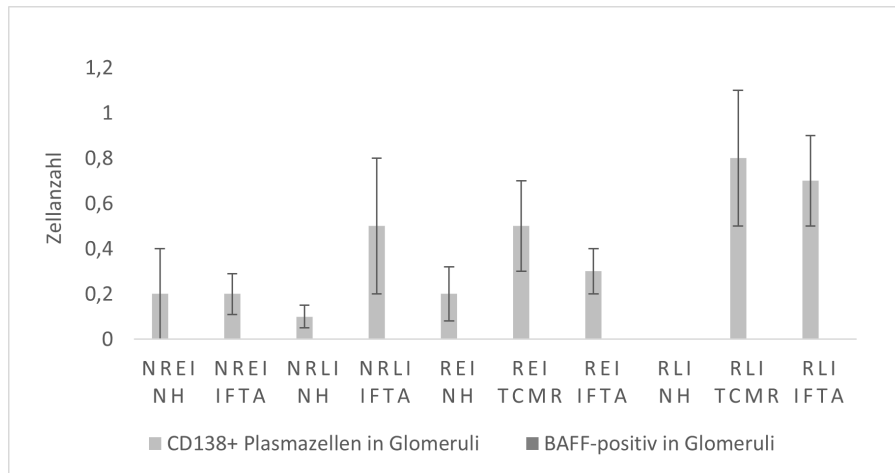


Abbildung 4.39: CD138⁺ Plasmazellen und BAFF-Expression (in Glomeruli)

BAFF-Expression in Korrelation mit der durchschnittlichen Anzahl an CD138⁺ Plasmazellen (in Glomeruli), quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

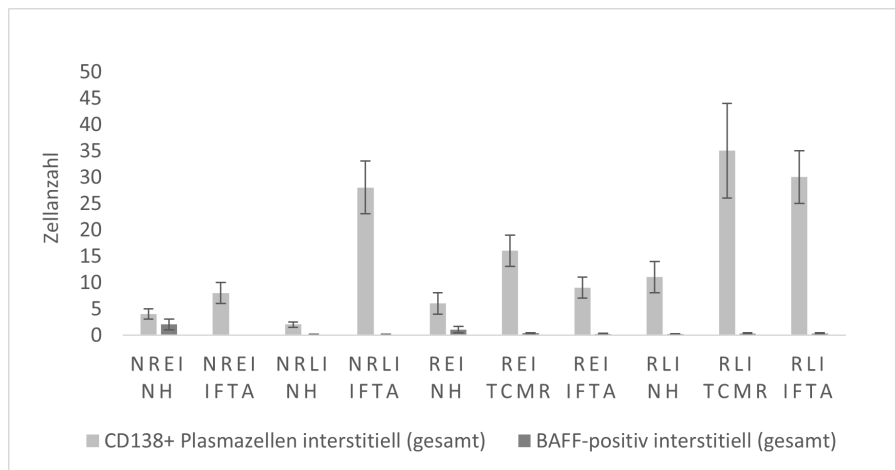


Abbildung 4.40: CD138⁺ Plasmazellen und BAFF-Expression (interstitiell gesamt)

BAFF-Expression in Korrelation mit der durchschnittlichen Anzahl an CD138⁺ Plasmazellen (interstitiell gesamt), quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

Ratio CD20⁺ B-/CD138⁺ Plasmazellen und BAFF-Expression

Die Abbildungen 4.41 und 4.42 stellen das Verhältnis zwischen den B-/Plasmazellen und der BAFF-Expression dar. Es wird deutlich, dass die geringsten BAFF-Expressionswerte und gleichzeitig die höchsten B-/Plasmazellwerte in den späten IFTA Gruppen (NRLI IFTA & RLI IFTA) vorlagen.

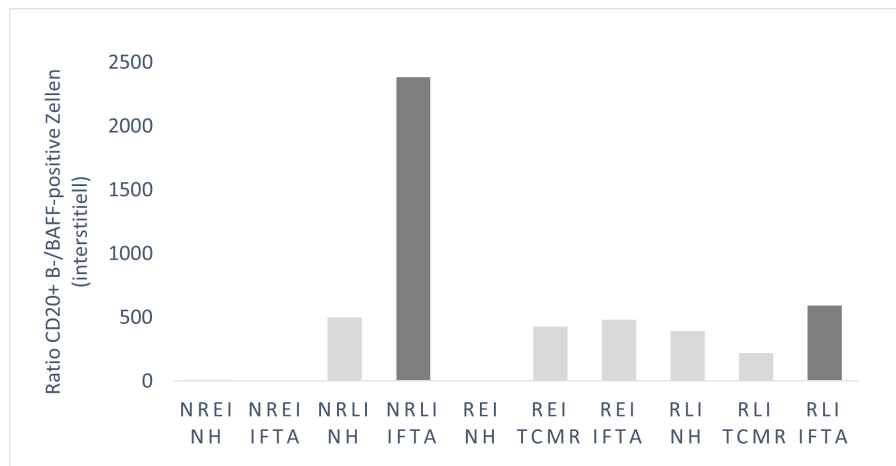


Abbildung 4.41: B-Zell-/BAFF-Verhältnis (interstitiell)

Verhältnis zwischen der durchschnittlichen Anzahl an CD20⁺ B-Zellen und BAFF-Expression (interstitiell), quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Dunkelgrau hervorgehoben sind die signifikant erhöhten B-Zellen gegenüber den BAFF-positiven Zellen.

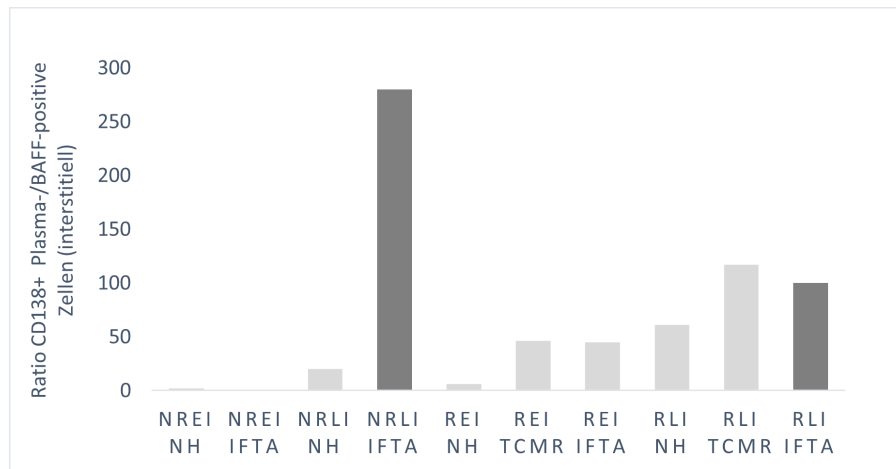


Abbildung 4.42: Plasmazell-/BAFF-Verhältnis (interstitiell)

Verhältnis zwischen der durchschnittlichen Anzahl an CD138⁺ Plasmazellen und BAFF-Expression (interstitiell), quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Dunkelgrau hervorgehoben sind die signifikant erhöhten Plasmazellen gegenüber den BAFF-positiven Zellen.

4.10 Intrarenale APRIL-Expression

Neben der Expression von BAFF, als möglichen Auslöser und Schlüsselfaktor bei der signifikanten Dominanz infiltrierender B-Zellen in späten IFTA Biopsien, fokussierten wir uns letztlich auch auf die Expression von APRIL. Unsere Analysen zuvor hatten gezeigt, dass BAFF vornehmlich eine höhere Affinität zu B- als zu Plasmazellen zeigte, aber auch Plasmazellen eine relevante Zellpopulation in späten IFTA Biopsien darstellten. Da APRIL aktiv an der Aufrechterhaltung des Plasmazell-Pools beteiligt zu sein scheint, indem er das Überleben und die Funktion antigenerfahrener B-Zellen moduliert, konzentrierten wir uns auf diesen Liganden als weiteren möglichen Schlüsselfaktor.

Zuerst untersuchten wir auch hier die APRIL-Expression innerhalb der stratifizierten Gruppen. Die Abbildungen 4.43 und 4.44 verdeutlichen unsere Ergebnisse. Eine Expression von APRIL trat vor allem bei Zellen auf, welche in das Tubulusinterstitium einwanderten (interstitiell). Hierbei vornehmlich bei einzelnen Zellen, als bei Zellclustern. Die höchsten APRIL-Expressionswerte konnten wir in Biopsien mit T-Zell-vermittelter Abstoßung (REI TCMR: 26 & RLI TCMR: 25 APRIL-positive, interstitiell einzelne Zellen) und IFTA nachweisen (NRLI IFTA: 16 & REI IFTA: 15 & NREI IFTA: 13 & RLI IFTA: 9 APRIL-positive, interstitiell einzelne Zellen). Die niedrigsten APRIL-Expressionswerte fanden wir in den normalen histologischen Biopsien (RLI NH: 11 & NRLI NH: 7 & REI NH: 8 & NREI NH: 6 APRIL-positive, interstitiell einzelne Zellen).

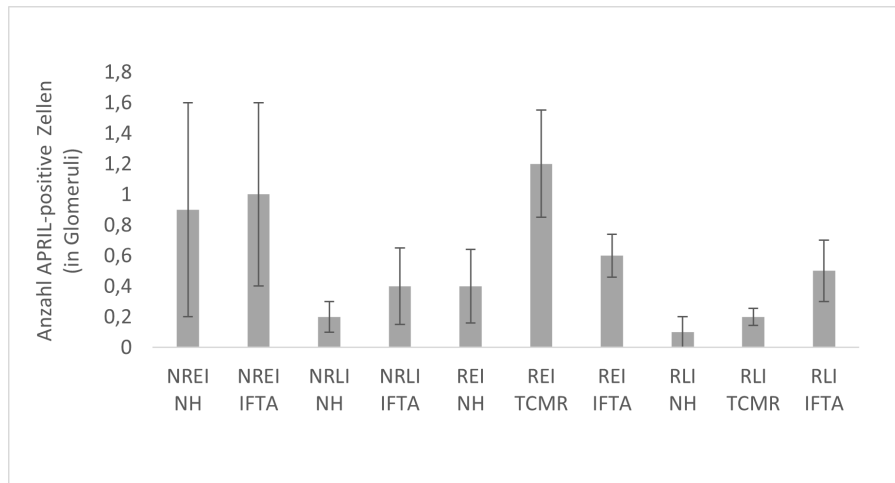


Abbildung 4.43: APRIL-Expression (in Glomeruli)

APRIL-Expression in Glomeruli, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

NREI: keine Abstoßung, frühe IFTA; NRLI: keine Abstoßung, späte IFTA;
 REI: Abstoßung, frühe IFTA; RLI: Abstoßung, späte IFTA; NH: normale Histologie;
 TCMR: T-Zell-vermittelte Abstoßung; IFTA: interstitielle Fibrose/tubuläre Atrophie;
 APRIL: ein Proliferation-induzierender-Ligand

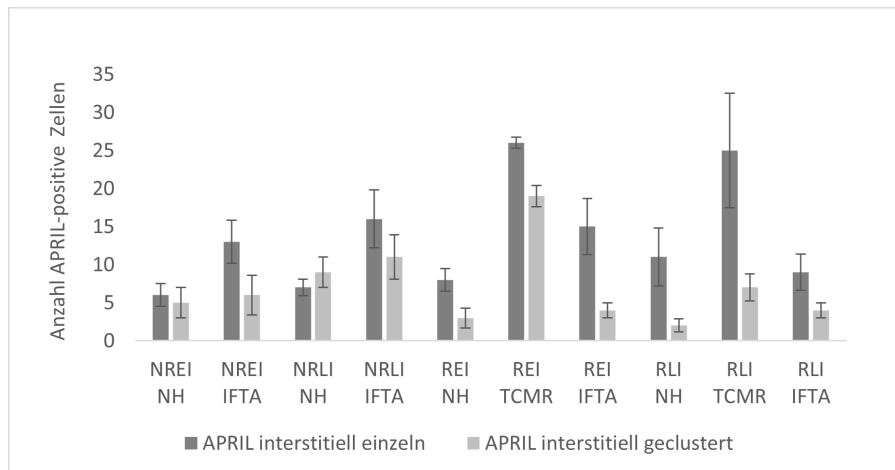


Abbildung 4.44: APRIL-Expression (interstitiell einzeln und interstitiell geclustert)

APRIL-Expression interstitiell einzeln und interstitiell geclustert, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

Korrelation mit CD20⁺ B-Zellen

In der Abbildung 4.45 ist die Korrelation zwischen der durchschnittlichen Anzahl an B-Zellen und der Expression von APRIL in den Transplantaten dargestellt. Zu erkennen ist hier, dass APRIL eine geringe Affinität zu B-Zellen zeigte.

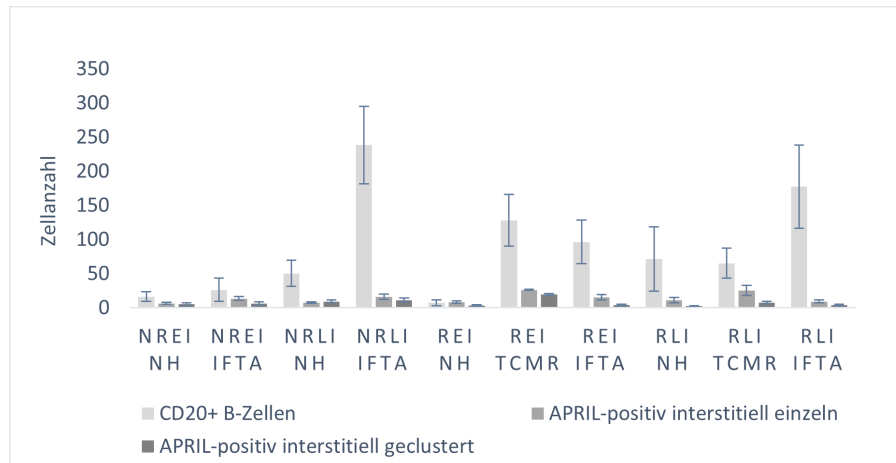


Abbildung 4.45: CD20⁺ B-Zellen und APRIL-Expression (interstitiell einzeln und interstitiell geclustert)

APRIL-Expression (interstitiell einzeln und interstitiell geclustert) in Korrelation mit der durchschnittlichen Anzahl an CD20⁺ B-Zellen, quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

Korrelation mit CD138⁺ Plasmazellen

In den Abbildungen 4.46 und 4.47 sind die Korrelationen zwischen der durchschnittlichen Anzahl an Plasmazellen und der Expression von APRIL in den einzelnen Kompartimenten der Transplantate dargestellt. Zu erkennen ist hier, dass APRIL eine hohe Affinität zu Plasmazellen zeigte, was wiederum mit dem Aspekt vereinbar ist, dass das Zytokin für eine Aufrechterhaltung des Plasmazell-Pools benötigt wird. Eine signifikante Hochregulierung der APRIL-Serumspiegel konnten wir vor allem interstitiell während T-Zell-vermittelten Abstoßungen feststellen (REI TCMR & RLI TCMR) und in Biopsien mit interstitieller Fibrose und tubulärer Atrophie. Hier vor allem in den späten IFTA Biopsien (NRLI IFTA & RLI IFTA). Beachtet man zusätzlich, dass APRIL unter anderem von Makrophagen und aktivierten T-Lymphozyten produziert wird und diese ebenfalls vornehmlich (wie in den Abbildungen 4.5 und 4.6 erkennbar ist) in Biopsien mit TCMR und später IFTA nachgewiesen werden konnten, ist verständlich warum die APRIL-Expressionswerte in diesen Biopsien signifikant erhöht waren.

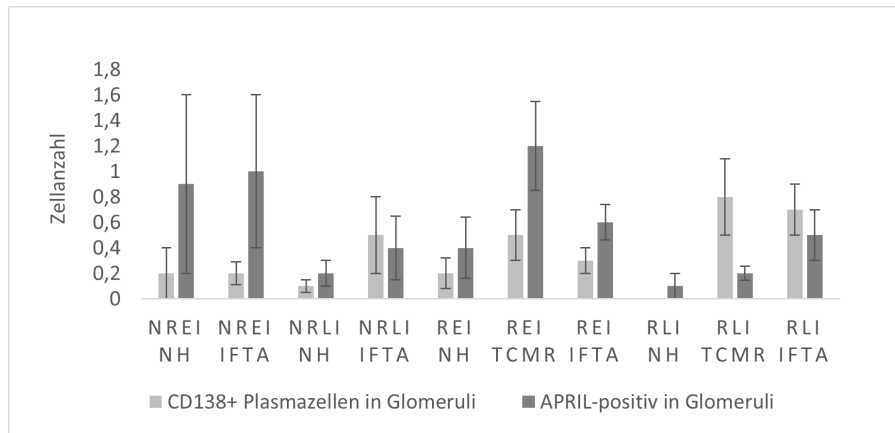


Abbildung 4.46: CD138⁺ Plasmazellen und APRIL-Expression (in Glomeruli)

APRIL-Expression in Korrelation mit der durchschnittlichen Anzahl an CD138⁺ Plasmazellen (in Glomeruli), quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

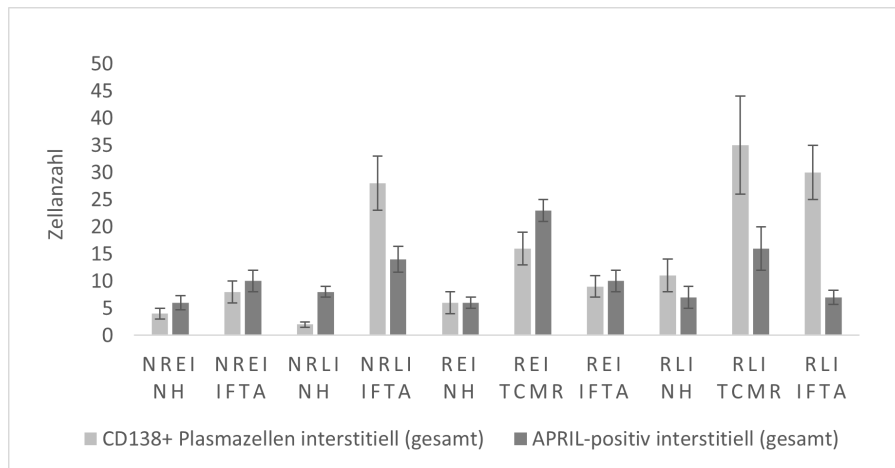


Abbildung 4.47: CD138⁺ Plasmazellen und APRIL-Expression (interstitiell gesamt)

APRIL-Expression in Korrelation mit der durchschnittlichen Anzahl an CD138⁺ Plasmazellen (interstitiell gesamt), quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Für die Abschätzung der mittleren Abweichung ist der Standardfehler angegeben.

Ratio CD20⁺ B-/CD138⁺ Plasmazellen und APRIL-Expression

Die Abbildungen 4.48, 4.49, 4.50 und 4.51 stellen das Verhältnis zwischen den B-/Plasmazellen und der APRIL-Expression dar. Deutlich wird, dass die geringsten APRIL-Expressionswerte und gleichzeitig die höchsten B-/Plasmazellwerte in den späten IFTA Gruppen (NRLI IFTA & RLI IFTA) und bei den Plasmazellen glomerulär ebenfalls in Biopsien mit spät-chronischem Verhalten und vorangegangener T-Zell-vermittelter Abstoßung (RLI TCMR) vorlagen.

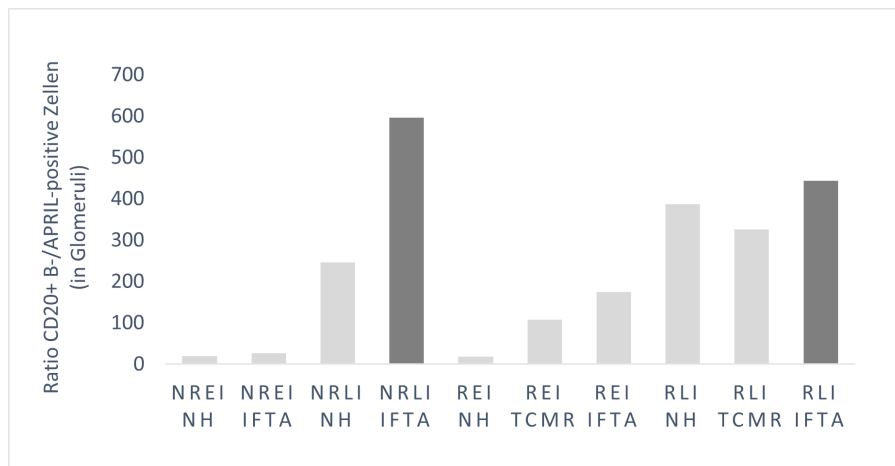


Abbildung 4.48: B-Zell-/APRIL-Verhältnis (in Glomeruli)

Verhältnis zwischen der durchschnittlichen Anzahl an CD20⁺ B-Zellen und BAFF-Expression (in Glomeruli), quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Dunkelgrau hervorgehoben sind die signifikant erhöhten B-Zellen gegenüber den APRIL-positiven Zellen.

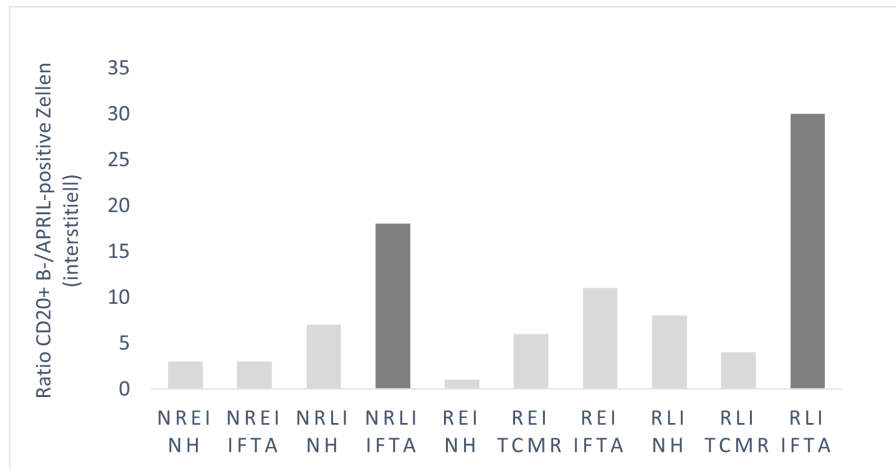


Abbildung 4.49: B-Zell-/APRIL-Verhältnis (interstitiell)

Verhältnis zwischen der durchschnittlichen Anzahl an CD20⁺ B-Zellen und der APRIL-Expression (interstitiell), quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Dunkelgrau hervorgehoben sind die signifikant erhöhten B-Zellen gegenüber den APRIL-positiven Zellen.

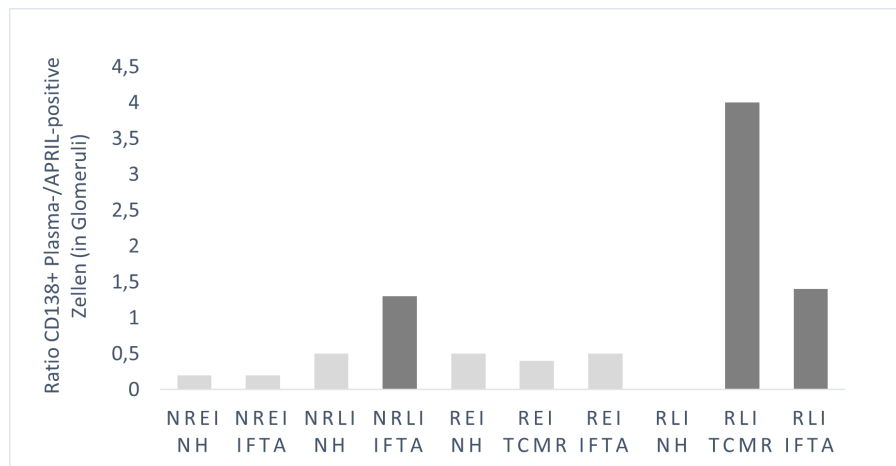


Abbildung 4.50: Plasmazell-/APRIL-Verhältnis (in Glomeruli)

Verhältnis zwischen der durchschnittlichen Anzahl an CD138⁺ Plasmazellen und der APRIL-Expression (in Glomeruli), quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Dunkelgrau hervorgehoben sind die signifikant erhöhten Plasmazellen gegenüber den APRIL-positiven Zellen.

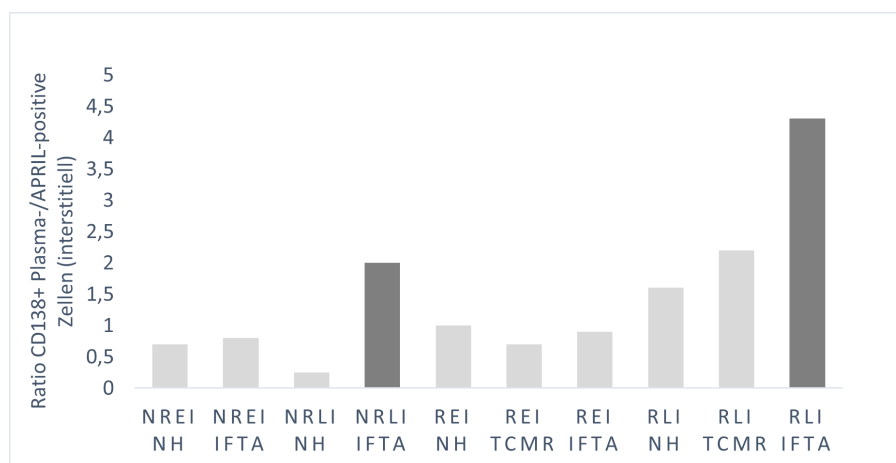


Abbildung 4.51: Plasmazell-/APRIL-Verhältnis (interstitiell)

Verhältnis zwischen der durchschnittlichen Anzahl an CD138⁺ Plasmazellen und der APRIL-Expression (interstitiell), quantifiziert nach stratifizierten Gruppen und histologischen Graden. Die Daten werden als Mittelwert dargestellt. Dunkelgrau hervorgehoben sind die signifikant erhöhten Plasmazellen gegenüber den APRIL-positiven Zellen.

5 Diskussion

Eine enge Assoziation mit dem Auftreten von chronischem Nierenversagen hat die Nierenfibrose. Unter dem Begriff Fibrose versteht man den narbigen Umbau von ursprünglich gesundem Nierengewebe. Dabei kommt es vor allem in dem Niereninterstitium zu Ablagerungen von Bindegewebsproteinen. Die Fibrose eines Organs tritt vornehmlich als Reaktion auf eine Immunantwort des Körpers auf eine subakut, akut oder chronisch einwirkende Schädigung des Gewebes auf [177]. Bei der Niere gibt es zahlreiche Faktoren, welche eine solche Fibrose auslösen und begünstigen können. Dazu gehören: arterielle Hypertonie (hypertensive Nephrosklerose), Diabetes mellitus (diabetische Nephropathie) und chronisch entzündliche Vorgänge, bis hin zu chronischen Harnabflussstörungen [178]. Im Zuge dieser pathologischen Prozesse geht durch apoptotische und nekrotische Vorgänge das gesunde Nierengewebe zugrunde und wird durch Bindegewebeinlagerungen ersetzt. Dadurch sinkt die Organfunktion drastisch und endet zumeist in einer dialysepflichtigen Niereninsuffizienz [179].

Eine derartige Vernarbung des Nierengewebes weist charakteristische histologische Merkmale auf, welche aufgrund des langsamen und oftmals unbemerkten Verlaufs erst bei späten Indikationsbiopsien aufgrund von Transplantatfunktionsstörungen entdeckt werden. Kennzeichnend für eine chronische und subklinisch verlaufende Zerstörung des Nierengewebes sind: IFTA, Glomerulopathie (Glomerulosklerose) und Vaskulopathie (beispielsweise arterielle Intimafibrose) [5–7]. Einige Studien deuteten bereits darauf hin, dass das Fortschreiten der Vernarbung durch mehrere, sich aufsummierende, schädigende Prozesse verursacht wird. Dazu zählen entzündliche (immunologische) Prozesse wie die TCMR und die ABMR, aber auch nicht-immunologische Ereignisse wie Bluthochdruck, Ischämie-Reperfusionsschäden oder Calcineurin-Nephrotoxizität [129, 180].

Die Genese von Nierentransplantatfunktionsstörungen ist meist multifaktoriell bedingt [4] und immer mehr Beweise deuten darauf hin, dass bei einem Großteil von Nierentransplantatempfängern eine subklinisch voranschreitende Abstoßung mit einer chronisch verlaufenden Allotransplantat-Nephropathie korreliert [181]. Obwohl bereits Nachweise verschiedener Forschungsgruppen über eine Assoziation von dnDSA, einer Makrophageninfiltration, dem Vorkommen von Plasma- und B-Zellen und der Expression von BAFF und APRIL mit dem Vorkommen von einer cABMR und chronischer Allotransplantat-Nephropathie vorliegen, besteht die Notwendigkeit nach weiteren Forschungen bezüglich detaillierter Mechanismen der daran beteiligten Faktoren [48, 68, 99, 101, 182].

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Kohorte von 69 Nierentransplantatempfängern untersucht, bei welcher durch eine Biopsie gesichert, eine IFTA, Glomerulosklerose und/oder eine fibrosierende Arteriopathie nachgewiesen werden konnte. Klinische und experimentelle Ergebnisse, sowie die Muster von Transplantat-infiltrierenden Zellen wurden bei seriellen Nierenbiopsien post transplantationem analysiert. Es wurden Vergleiche zu Transplantations-assoziierten Faktoren, der Transplantatfunktion und des Transplantatüberlebens angestellt. Dabei traf man auf bereits bekannte Faktoren, welche nachweislich für ein schlechteres Transplantatergebnis prädestiniert sind: das Spender- und Empfängeralter, die Anzahl der HLA-MM, die Dauer der kalten Ischämiezeit, sowie eine verzögerte Transplantatfunktion [183–186].

Es bestand die Vermutung, dass es sich bei Transplantatschäden in den frühen IFTA Gruppen (NREI & REI), welche innerhalb des ersten Jahres nach der Transplantation auftraten, um eine vornehmlich Spender-assoziierte Pathogenese handelte: eine vorab bestehende Nierenvernarbung wurde durch Ischämie-Reperfusionsschäden und akute zelluläre Abstoßungsprozesse verstärkt. Dem gegenüber zeigten späte IFTA Gruppen (NRLI & RLI) günstigere Merkmale auf. Obwohl eine Abstoßung mit einem verkürzten Transplantatüberleben verbunden war, zeigten abstoßende Patienten der untersuchten Kohorte (RLI) bessere Transplantatergebnisse. Aufgrunddessen wurde eine unterschiedliche Pathogenese bei Patienten der frühen und späten IFTA Gruppen vermutet. Zunehmend wird der späte Transplantatverlust in Berichten mit einer cABMR assoziiert. Eine solche Transplantatschädigung wird oftmals erst sehr spät, zum Beispiel anhand von einer Albuminurie, festgestellt [4, 187]. Der Aspekt, dass ein besseres Transplantatresultat bei Patienten mit akuter zellulärer Abstoßung auftritt, unterstreicht eine Frage: Führt eine verstärkte Erhaltungssuppression, welche gewohnheitsmäßig nach akuter Abstoßung durchgeführt wird, auch zu einer verstärkten Unterdrückung einer cABMR?

Analysiert wurden die in das Nierentransplantat einwandernden Zellpopulationen. Dabei wurden bereits bekannte Merkmale bestätigt, aber auch neue Muster bei der Zusammensetzung der infiltrierenden Zellen detektiert. Es lag eine signifikante Dominanz von T-Lymphozyten und Makrophagen bei akuten T-Zell-vermittelten Abstoßungen (REI TCMR & RLI TCMR) vor. Auch in den späten IFTA Biopsien (NRLI IFTA & RLI IFTA) bildeten T-Zellen eine relevante Menge an Infiltrat. Bereits in früheren Forschungsarbeiten konnte eine vermehrte Makrophageninfiltration bei akuten Abstoßungen nachgewiesen werden [182]. Unabhängig von der Abstoßung besteht eine Korrelation zwischen der Einwanderung von CD68⁺-Zellen, dem Auftreten einer Nierenfibrose und dem damit verbundenen schlechteren Transplantatergebnis [182, 188–190]. Das Vorkommen erhöhter T-Zell-Infiltrate in späten IFTA Biopsien passt mit einigen früheren Berichten überein: bereits Moreso et al. detektierten erhöhte Mengen einwandernder T-Zellen in Protokollbiopsien spät nach der Transplantation und mit etablierter IFTA [187]. Weitere Forschungsgruppen entdeckten eine Assoziation zwischen entzündlichen Läsionen, dem Vorhandensein

einer IFTA und einem verringerten Transplantatergebnis [189, 191, 192].

Zu dem auffälligsten Ergebnis dieser Arbeit zählt die signifikant erhöhte Anzahl an B-Lymphozyten und Plasmazellen in den späten IFTA Biopsien (NRLI IFTA & RLI IFTA). Beide Immunzelltypen konnten auch während einer akuten Abstoßung (RLI TCMR & REI TCMR) und in Protokollnierenbiopsien nachgewiesen werden. Das Vorhandensein von B- und Plasmazellen im Allotransplantat korrelierte mit einem schlechteren Transplantationsresultat. Es entwickelten innerhalb der Nachbeobachtungszeit deutlich mehr Patienten aus späten IFTA Gruppen ein Transplantatversagen mit der Notwendigkeit zu einer anschließenden Re-Dialyse. Diesen Zusammenhang belegten weitere Arbeiten, in denen ebenfalls erhöhte B- und Plasmazellinfiltrate mit einem schlechteren Allotransplantationsergebnis korrelierten [193–195]. Laut den Ergebnissen anderer Forschungsarbeiten gibt es konträre Evidenz hierzu: erhöht vorkommende B-Zell-Infiltrate waren vor allem mit einer Toleranzinduktion verbunden [196, 197]. Was in dieser Arbeit nicht erfolgte, war eine spezifische Charakterisierung von B-Zell-Subtypen. Das könnte eine Erklärung für verschiedene klinische Phänotypen sein. Zarkhin et. al untersuchten spezifische Untergruppen von pathogenen B-Zellen während Abstoßungsreaktionen und zeigten, dass CD38⁺ Plasmablasten und CD27⁺ Gedächtnis-B-Zellen mit dem Nachweis von DSA und einem reduzierten Transplantatüberleben korrelierten [198].

Durch ein kennzeichnendes Muster von infiltrierenden Zellen, spiegelten sich in dieser Forschungsarbeit typisch klinische Erscheinungsbilder wider: in späten IFTA Biopsien (NRLI IFTA & RLI IFTA), sowie in Biopsien mit akuter T-Zell-vermittelter Abstoßung (REI TCMR & RLI TCMR) lagen die einwandernden Zellen in Form von Zellclustern (Knötchen/Zellaggregaten) vor. Diese setzten sich vornehmlich aus T-, B- und Plasmazellen zusammen. Dadurch ließ sich ein klarer Zusammenhang zwischen dem Vorkommen einer IFTA und einer immunologischen Pathogenese erkennen. Eine signifikante Dominanz von B- und Plasmazellen, ihr geclustertes Vorkommen in den späten IFTA Biopsien und die bekannte Assoziation mit einer cABMR und der daraus resultierenden späten Nierentransplantatdysfunktion unterstreichen nochmals die bedeutende Rolle dieser infiltrierenden Immunzellen. Aufgrund dieser signifikanten Dominanz wurde versucht, eine mögliche Ursache dafür zu identifizieren: zusätzlich rückte die Untersuchung der Zytokine BAFF und APRIL in den Vordergrund. Hierbei wird der B-Zell-Aktivierungsfaktor BAFF ganz klar als wichtiger Schlüsselfaktor bei der Differenzierung und Reifung von B- zu Plasmazellen und APRIL für die Aufrechterhaltung des Plasmazell-Pools angesehen. Verschiedenen Berichten zufolge, wurde auf die bedeutende Rolle dieser Zytokine im Zusammenhang mit einer ABMR bei Nierentransplantationen hingewiesen: erhöhte BAFF-Serumspiegel konnten beispielsweise post transplantationem und nach einer B-Zell-abbauenden Therapie nachgewiesen werden [99, 199]. Ein Nachweis erhöhter APRIL-Serumspiegel erfolgte in Nierentransplantatgeweben nach ABMR [101] und die Produktion von Autoantikörpern wurde in Nierentransplantaten mit

chronischer Abstoßung durch eine BAFF-/APRIL-Blockade signifikant reduziert [114]. Weiteren Berichten zufolge, konnte eine Verbindung zwischen der Menge an BAFF-/APRIL-Serumspiegeln und dem Auftreten von Abstoßungsreaktionen, dem Transplantatresultat und dem Vorkommen von dnDSA hergestellt werden [200] und andere Berichte konnten diese Assoziation nicht bestätigen [97]. Nachweislich besteht ein Einfluss der systemischen humoralen Immunität bei der ABMR.

Es gibt bereits neuere Erkenntnisse, welche auf eine Teilnahme lokaler Mechanismen in der Niere hindeuten. Unterstützt wird diese Hypothese durch die in das Transplantat einwandernden Zellen, welche sowohl Effektor-, als auch Regulatorfunktionen zeigen und sich in verschiedenen Differenzierungsstadien befinden.

Innerhalb dieser Studie konzentrierte man sich auf die Expression von BAFF und APRIL in dem Nierentransplantat bei Patienten aus zuvor stratifizierten Gruppen. Untersucht wurde die BAFF-Expression innerhalb der Glomeruli, im Niereninterstitium und auf tubulären Epithelzellen. Der auffälligste Befund dabei war, dass signifikant erhöhte BAFF-Expressionswerte auf tubulären Zellen und bei in das Tubulusinterstitium einwandernden Zellen nachgewiesen werden konnten. Darüber hinaus waren erhöhte BAFF-Werte mit einer frühen cABMR, einem deutlich kürzeren Transplantatüberleben und einer schlechteren Transplantatfunktion assoziiert. Signifikant erhöhte APRIL-Expressionswerte wurden interstitiell einzeln und interstitiell geclustert detektiert. Die nachgewiesenen erhöhten Expressionswerte in den einzelnen Nierenbereichen stehen in Übereinstimmung mit einigen wenigen Berichten, in welchen die intrarenale BAFF-/APRIL-Expression analysiert wurde, aber zum Teil auch im Gegensatz dazu [101, 201–203]. Doch warum wird BAFF vornehmlich auf tubulären Epithelzellen exprimiert?

Nachweislich kommt es im Rahmen der Autoimmunität bei verschiedenen Epithelzellarten zu einer Expression von Chemo- und Zytokinen. Solche Epithelzellen üben einen Einfluss auf das Überleben, die Differenzierung und Funktion von B-Zellen aus. Beispielsweise bei Patienten mit Sjögren-Syndrom, einer chronisch verlaufenden Autoimmunkrankheit des rheumatischen Formenkreises, bei welcher vornehmlich die Speichel- und Tränendrüsen von Immunzellen angegriffen werden. Hier wurden die Speichlepithelzellen als BAFF-exprimierende Zellen identifiziert. Ittah et al. fanden in einer Studie dazu heraus, dass es zu einer verstärkten BAFF-Expression durch eine Stimulation von Toll-like-Rezeptoren (TLR), nach viralen Infekten und durch Typ-I-Interferon kommen kann [204]. Auch bei der Untersuchung von Atemwegsepithelien konnten analoge Resultate erzielt werden. Hier unterstützten diese protektiv die Antikörper- und B-Zell-Reaktionen innerhalb der Lunge [205]. Im Bereich der Nephrologie konnten Sampangi et al. mit ihrer Studie zeigen, dass die proximalen Tubulusepithelzellen der Niere (PTEC) in der Lage sind, eine Modulation des Phänotyps und der Funktion autologer B-Lymphozyten zu erreichen [206]. Forschungsergebnissen zufolge, scheinen tubuläre Nierenepithelzellen an entzündlichen Nierenerkrankungen beteiligt zu sein, indem sie durch die Expression von

verschiedenen HLA-Molekülen, Zytokinen oder TLRs das erworbene Immunsystem stimulieren [207, 208]. Somit kann man davon ausgehen, dass Tubulusepithelzellen der Niere an der B-Zellproliferation mitbeteiligt sind und die lokale humorale Immunantwort anregen, was wiederum zu einer chronischen Entzündungsreaktion führen kann.

Erhöhte BAFF-Werte konnten in dieser Studie besonders innerhalb der frühen IFTA Gruppen (NREI & REI) gefunden werden. Patienten, die diesen Gruppen angehörten, zeigten zwar eine frühe Transplantatdysfunktion, hatten aber zum Teil auch ein sehr gutes Transplantatüberleben von stellenweise bis zu 14 Jahren. Es ist daher durchaus denkbar, dass BAFF auch ein Auslöser von bestimmten regulatorischen beziehungsweise Toleranzmechanismen sein kann. Die erhöhten Expressionswerte in den frühen Biopsien nach der Nierentransplantation machen BAFF zu einem frühzeitigen Auslöser und Indikator für das später folgende Transplantationsresultat. Diese Aussage steht jedoch mehr oder weniger im Gegensatz zu den Ergebnissen von Thaunat et al., welche erhöhte BAFF-Serumspiegel nach einer Rituximab-Therapie in chronisch-abstoßenden Nierentransplantaten nachweisen konnten und davon ausgingen, dass BAFF ein Überlebenssignal für B-Zellen in tertiär lymphatischen Organen (TLOs) liefert und somit eine Möglichkeit bietet, eine therapeutische Effizienz abzuwehren [209].

Unter der Berücksichtigung eines möglichen Zusammenhanges zwischen dem Vorkommen von BAFF innerhalb des Nierentransplantates und einem schlechteren Transplantatresultat, wurde die Entwicklung von dnDSA untersucht. Bei circa 29% der Patienten innerhalb der stratifizierten Gruppen konnte DSA nachgewiesen werden, bei 60% davon handelte es sich um dnDSA post transplantationem. Da das Vorkommen von DSA nur zu einem einzigen Zeitpunkt untersucht wurde, muss davon ausgegangen werden, dass weitere Patienten DSA-positiv gewesen wären und die Ergebnisse unterschätzt wurden. Bekannterweise ist die Nachweisgrenze von DSA sehr variabel. Übereinstimmend mit früheren Forschungsberichten waren dnDSA mit einem deutlich kürzeren Transplantatüberleben und mit häufigeren Entwicklungen eines Transplantatversagens innerhalb der Nachbeobachtungszeit mit Notwendigkeit zu einer Re-Dialyse verbunden [181].

6 Zusammenfassung

Das Endbild multipler pathologischer Vorgänge stellt die Nierenvernarbung/Fibrose dar. Gleichzeitig geht diese mit einem signifikanten Nierenfunktionsverlust einher. Aufgrund periodisch ablaufender Dialysen kommt es für terminal niereninsuffiziente Patienten zu erheblichen Einschränkungen in ihrer Lebensqualität. Das nähere Beleuchten dieses Krankheitsbildes, aufgrund der sehr engen Assoziation zu einem Auftreten von chronischem Nierenversagen, ist daher von enormen Interesse.

Ziel dieser Arbeit war es, eine mögliche Korrelation zwischen dem Vorkommen von intrarenalen Makrophagen (CD68⁺-Zellen), T-Lymphozyten (CD3⁺-Zellen), B-Lymphozyten (CD20⁺-Zellen), Plasmazellen (CD138⁺-Zellen) und der Entwicklung von chronischen Transplantatveränderungen zu prüfen. Analysiert wurde die Rolle relevanter inflammatorischer Zelltypen, sowie immunhistochemisch das Ausmaß ihrer Transplantatimmigration. Zusätzlich wurde nach einem möglichen Indikator für das frühe Auftreten einer IFTA, dem Auftreten von dnDSA und dem damit verbundenen verkürzten Transplantatüberleben untersucht. Der Fokus lag hierbei primär auf BAFF und seinem ihm strukturell ähnelnden Liganden APRIL.

Dafür wurden in einer ausgewählten Kohorte von Nierentransplantatempfängern des UKRs, mit bioptisch gesicherter IFTA, innerhalb des Nachsorgezeitraumes standardisierte Nierenprotokoll- und Indikationsbiopsien gewonnen. Dadurch war es möglich, die Bedeutung infiltrierender Immunzellen in histologisch und klinisch verschiedenen Situationen zu analysieren. Analysiert wurden gesunde Transplantate mit NH, Transplantate während einer TCMR, sowie in der Situation mit vorhandener IFTA. Trat die IFTA innerhalb des ersten Jahres nach der erfolgten Nierentransplantation auf, wurden die Patienten einer frühen IFTA Gruppe zugewiesen (NREI & REI). Trat die IFTA erst nach Ablauf des ersten Jahres auf, fand eine Zuweisung zu einer späten IFTA Gruppe (NRLI & RLI) statt. Zusätzlich zu der Betrachtung des zeitlichen Verlaufs, erfolgte eine Stratifizierung nach An- oder Abwesenheit einer vorherigen akuten TCMR: mit Abstoßung (REI & RLI) und ohne Abstoßung (NREI & NRLI). Damit erhoffte man sich, genaue Rückschlüsse auf die Auswirkung (nicht-)immunologischer Faktoren auf die Pathogenese der chronischen Transplantatschädigung ziehen zu können.

Im Einklang mit früheren Studien konnte gezeigt werden, dass vor allem Makrophagen zu einer relevanten Menge an Transplantatinfiltat zählten. Vornehmlich in frühen IFTA Gruppen (NREI & REI) waren die CD68⁺-Zellen deutlich erhöht, was darauf hindeutet, dass Makrophagen bereits früh nach der Nierentransplantation infolge eines Entzündungsgeschehens in das Allotransplantat einwandern, um

dort das beschädigte Gewebe durch Phagozytose zu entfernen. Das könnte einen Hinweis darauf geben, dass Makrophagen als entscheidender Schlüsselfaktor, beispielsweise durch Aktivierung von B- und T-Lymphozyten durch Zytokinfreisetzung, einer früh auftretenden IFTA angesehen werden könnten. Bekannt ist auch, dass Makrophagen/Monozyten zu den Zellen zählen, welche imstande sind BAFF zu produzieren. BAFF wurde in dieser Arbeit mit einem vorzeitigen Auftreten einer IFTA und einem schlechteren Transplantatresultat in Verbindung gebracht. Es scheint plausibel zu sein, dass BAFF ein Indikator und Mitverursacher eines lokal auftretenden Mechanismus zu sein scheint, welcher zu einer cABMR und damit zu einer schlechteren Transplantatfunktion führt. Eine vorzeitige IFTA-Diagnose war mit einem signifikant geringeren durchschnittlichen Gesamttransplantatüberleben, einer vermehrt auftretenden primären Non-, oder verzögerten Transplantatfunktion und einer allgemein schlechteren Nierenfunktion verbunden. Entwickelten Patienten innerhalb der Nachbeobachtungszeit ein definitives Transplantatversagen mit der damit verbundenen Notwendigkeit zu einer Re-Dialyse, war auch hier die Zeit bis zu einem endgültigen Transplantatversagen deutlich kürzer als in den späten IFTA Gruppen. Des Weiteren konnte eine charakteristische Zusammensetzung des Allotransplantat-Infiltrats identifiziert werden, wenn die IFTA nach über einem Jahr post transplantationem auftrat: späte IFTA Gruppen waren durch eine ausgeprägte Induktion von Zellen der adaptiven Immunität (B-, T- und Plasmazellen) definiert. Das legt die Vermutung nahe, dass die Ursache der IFTA, unabhängig von vorangegangener Abstoßung, eine immunologische zu sein scheint.

Die Ergebnisse haben gezeigt, dass die bereits bekannten Risikofaktoren für die Entwicklung einer chronischen Allotransplantat-Nephropathie, zu welchen unter anderem rezidivierende akute Abstoßungen und Ischämie-/ Reperfusionsschäden zählen, zwar primär verschiedene Effekte im Nierentransplantat generieren, letzten Endes aber in einer gemeinsamen immunologischen Endstrecke münden.

Aufgrund der nachweislich erhöhten Menge an infiltrierenden T-Lymphozyten in Biopsien mit akuter zellulärer Abstoßung und in späten IFTA Biopsien, konnte bestätigt werden, dass CD3⁺-Zellen zu den Effektoren der Zytotoxizität zählen und es bei unzureichender T-Zell-Suppression im Rahmen der immunsuppressiven Therapie zu vermehrten Abstoßungsreaktionen kommen kann. Patienten mit akuten zellulären Abstoßungsreaktionen zeigten zudem eine signifikant höhere durchschnittliche Anzahl an HLA-MM. Vor allem die für eine Transplantation ungünstigeren Matchgrade 4-6 waren hier deutlich erhöht und zusätzlich mit einer erhöhten Menge an B-Lymphozyten verbunden. Auch eine vorhandene Vorimmunisierung mit einem PRA >1% stand in Verbindung mit erhöhten CD20⁺-Zellen und TCMR. Signifikant erhöhte Mengen infiltrierender B- und Plasmazellen konnten in Biopsien mit spät aufgetretenen, chronischen Verhalten (NRLI & RLI) nachgewiesen werden. Damit verbunden war eine deutlich erhöhte dnDSA Produktion nach der Transplantation, welche bekanntermaßen ebenfalls mit erhöhten Abstoßungsreaktionen, schlechter Transplantatfunktion und einem geringeren Transplantatüberleben assoziiert ist.

Zusammenfassend kann man sagen, dass eine spät auftretende cABMR vornehmlich durch eine ausgeprägte Induktion von Zellen der adaptiven Immunität (B-, T- und Plasmazellen) definiert ist. Den seltensten Zelltyp der späten IFTA stellen die Plasmazellen als Antikörper-produzierende Zellen dar. Vor allem in Form von Zellclustern sind sie eng mit dem Zytokin APRIL und vorherigen Abstoßungsreaktionen assoziiert, da APRIL für die Aufrechterhaltung des Plasmazell-Pools dient. Das Zytokin BAFF hingegen unterstreicht nochmals die Rolle von (tubulären) Epithelzellen in Verbindung mit Autoimmunität. Sie scheinen als Mitverursacher der B-Zell-Proliferation zu fungieren. Da BAFF deutlich mit einer vorzeitigen IFTA-Diagnose assoziiert war, trägt er somit zum Einen zu lokalen Mechanismen bei, welche letzten Endes zu einer cABMR führen und dient zum Anderen als Prädiktor eben dieser.

Früh und spät auftretende chronische Nierentransplantat-Abstoßungsreaktionen scheinen bezüglich ihrer Pathogenese sowohl unterschiedliche, als auch gemeinsame Ursachen zu haben. Oberste Priorität sollte daher eine weitere Untersuchung der Mechanismen und Faktoren sein, welche die Expression von BAFF (und auch APRIL) im (Nieren-)Transplantat induzieren und regulieren, da nachweislich ein kausaler Zusammenhang zwischen den beiden Zytokinen und der Entstehung von chronischen Allotransplantat-Nephropathien besteht. Von enormen Interesse ist eine Weiterentwicklung von wissenschaftlich fundierten Strategien und eine Entwicklung von Maßnahmen durch intensiviertere medizinische Forschungen um optimiertere Therapiekonzepte für die Vermeidung pathologischer Nierenfibrosen zu erzielen, um damit eine Verbesserung der Transplantatlangzeitresultate zu bewirken.

Literaturverzeichnis

- [1] A. Weidemann, M. Büttner, K. Amann, und M. Wiesener, *BANFF-Klassifikation der Histologie von Nierentransplantaten und therapeutische Konsequenzen*, *Der Nephrologe* **10**, 113 (2015).
- [2] G. Böhmig, *Alloantikörper-vermittelte Abstoßung von Nierentransplantaten: ein Paar fortlaufender Ansätze und dennoch mit vielen offenen Fragen*, *Wiener klinische Wochenschrift* **118/13-14**, 373 (2006).
- [3] T. Wekerle, D. Segev, R. Lechler, und R. Oberbauer, *Strategies for long-term preservation of kidney graft function*, *The Lancet* **389**, 2152 (2017).
- [4] J. Sellarés, D. G. de Freitas, M. Mengel, J. Reeve, G. Einecke, B. Sis, L. G. Hidalgo, K. Famulski, A. Matas, und P. F. Halloran, *Understanding the Causes of Kidney Transplant Failure: The Dominant Role of Antibody-Mediated Rejection and Nonadherence*, *American Journal of Transplantation* **12**, 388 (2012).
- [5] G. Einecke, B. Sis, J. Reeve, M. Mengel, P. M. Campbell, L. G. Hidalgo, B. Kaplan, und P. F. Halloran, *Antibody-Mediated Microcirculation Injury Is the Major Cause of Late Kidney Transplant Failure*, *American Journal of Transplantation* **9**, 2520 (2009).
- [6] K. Solez, R. Colvin, L. Racusen, B. Sis, P. Halloran, P. Birk, P. Campbell, M. Cascalho, A. Collins, A. Demetris, C. Drachenberg, I. Gibson, P. Grimm, M. Haas, E. Lerut, H. Liapis, R. Mannon, P. Marcus, M. Mengel, M. Mihatsch, B. Nankivell, V. Nickleit, J. Papadimitriou, J. Platt, P. Randhawa, I. Roberts, L. Salinas-Madriga, D. Salomon, D. Seron, M. Sheaff, und J. Weening, *Banff '05 Meeting Report: Differential Diagnosis of Chronic Allograft Injury and Elimination of Chronic Allograft Nephropathy ('CAN')*, *American Journal of Transplantation* **7**, 518 (2007).
- [7] L. Racusen, K. Solez, R. Colvin, S. Bonsib, M. Castro, T. Cavallo, B. Croker, A. Demetris, C. Drachenberg, A. Fogo, P. Furness, L. Gaber, I. Gibson, D. Glotz, J. Goldberg, J. Grande, P. Halloran, H. Hansen, B. Hartley, P. Hayry, C. Hill, E. Hoffman, L. Hunsicker, A. Lindblad, und Y. Yamaguchi, *The Banff 97 working classification of renal allograft pathology*, *Kidney International* **55**, 713 (1999).

- [8] L. Ng, A. Sutherland, R. Newton, F. Qian, T. Cachero, M. Scott, J. Thompson, J. Wheway, T. Chtanova, J. Groom, I. Sutton, C. Xin, S. Tangye, S. Kalled, F. Mackay, und C. Mackay, *B Cell-Activating Factor Belonging to the TNF Family (BAFF)-R Is the Principal BAFF Receptor Facilitating BAFF Costimulation of Circulating T and B Cells*, *The Journal of Immunology* **173**, 807 (2004).
- [9] C. Lohéac, O. Aubert, A. Loupy, und C. Legendre, *Étude des étiologies spécifiques de perte des greffons rénaux: place du rejet médié par les anticorps et approche en population*, *Néphrologie Thérapeutique* **14**, S39 (2018), actualités néphrologiques Jean Hamburger Hôpital Necker 2018.
- [10] G. Comai, M. Ravaioli, O. Baraldi, V. Cuna, L. Gasperoni, G. D'Arcangelo, M. Cappuccilli, A. Pinna, C. Ronco, und G. L. Manna, *Treatment of Acute Antibody-Mediated Rejection*, *Karger* **190**, 156 (2017).
- [11] F. Eskandary, H. Regele, L. Baumann, G. Bond, N. Kozakowski, M. Wahrmann, L. G. Hidalgo, H. Haslacher, C. C. Kaltenecker, M.-B. Aretin, R. Oberbauer, M. Posch, A. Staudenherz, A. Handisurya, J. Reeve, P. F. Halloran, und G. A. Böhmig, *A Randomized Trial of Bortezomib in Late Antibody-Mediated Kidney Transplant Rejection*, *Journal of the American Society of Nephrology* **29**, 591 (2018).
- [12] J. Choi, O. Aubert, A. Vo, A. Loupy, M. Haas, D. Puliyananda, I. Kim, S. Louie, A. Kang, A. Peng, J. Kahwaji, N. Reinsmoen, M. Toyoda, und S. C. Jordan, *Assessment of Tocilizumab (Anti-Interleukin-6 Receptor Monoclonal) as a Potential Treatment for Chronic Antibody-Mediated Rejection and Transplant Glomerulopathy in HLA-Sensitized Renal Allograft Recipients*, *American Journal of Transplantation* **17**, 2381 (2017).
- [13] B. Jung, L. Kuehne, A. Schuster, U. Wiesemann, P. Ruemmele, C. Schoenemann, B. Banas, und T. Bergler, *Intragraft BAFF expression: indicator of early IFTA, de novo DSA and shortened graft survival in kidney transplantation*, unpublished article (2019).
- [14] P. Gulati, *Janeway's Immunobiology, 7th Edition by Kenneth Murphy, Paul Travers, and Mark Walport*, *Biochemistry and Molecular Biology Education* **37**, 134 (2009).
- [15] T. Kawai und S. Akira, *The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors*, *Nature Immunology* **11**, 373–384 (2010).
- [16] R. Medzhitov und C. A. Janeway, *Innate immunity: impact on the adaptive immune response*, *Current Opinion in Immunology* **9**, 4 (1997).

- [17] J. Behrends, J. Bischofberger, R. Deutzmann, H. Ehmke, S. Frings, S. Grissmer, M. Hoth, A. Kurtz, J. Leipziger, F. Müller, C. Pedain, J. Rettig, C. Wagner, und E. Wischmeyer, *Duale Reihe Physiologie*, 2nd ed. (Georg Thieme Verlag KG, 2012).
- [18] C. A. Biron, K. B. Nguyen, G. C. Pien, L. P. Cousens, und T. P. Salazar-Mather, *NATURAL KILLER CELLS IN ANTIVIRAL DEFENSE: Function and Regulation by Innate Cytokines*, Annual Review of Immunology **17**, 189 (1999).
- [19] S. Kaufmann, *Basiswissen Immunologie*, 7th ed. (Springer-Verlag, 2014).
- [20] E. Vivier, D. H. Raulet, A. Moretta, M. A. Caligiuri, L. Zitvogel, L. L. Lanier, W. M. Yokoyama, und S. Ugolini, *Innate or Adaptive Immunity? The Example of Natural Killer Cells*, Science **331**, 44 (2011).
- [21] J. Pratschke, D. Stauch, und K. Kotsch, *Role of NK and NKT cells in solid organ transplantation*, Transplant International **22**, 859 (2009).
- [22] A. Abbas, A. Lichtman, und S. Pillai, *Cellular and molecular immunology*, 8th ed. (Elsevier, 2014).
- [23] D. Nemazee, *Receptor Selection in B and T Lymphocytes*, Annual Review of Immunology **18**, 19 (2000).
- [24] H. S. Teh, P. Kisielow, B. Scott, H. Kishi, Y. Uematsu, H. Blüthmann, und H. von Boehmer, *Thymic major histocompatibility complex antigens and the alpha beta T-cell receptor determine the CD4/CD8 phenotype of T cells*, Nature **335**, 229–233 (1988).
- [25] J. Banchereau, F. Briere, C. Caux, J. Davoust, S. Lebecque, Y.-J. Liu, B. Puelandran, und K. Palucka, *Immunobiology of Dendritic Cells*, Annual Review of Immunology **18**, 767 (2000).
- [26] D. J. Lenschow, T. L. Walunas, und J. A. Bluestone, *CD28/B7 SYSTEM OF T CELL COSTIMULATION*, Annual Review of Immunology **14**, 233 (1996).
- [27] T. R. Mosmann, L. Li, und S. Sad, *Functions of CD8 T-cell subsets secreting different cytokine patterns*, Seminars in Immunology **9**, 87 (1997).
- [28] A. K. Abbas, K. M. Murphy, und A. Sher, *Functional diversity of helper T lymphocytes*, Nature **383**, 787–793 (1996).
- [29] M. Davis und P. Bjorkman, *T-cell antigen receptor genes and T-cell recognition.*, Nature **334**, 395–402 (1988).

- [30] M. Attaf, M. Legut, D. K. Cole, und A. K. Sewell, *The T cell antigen receptor: the Swiss army knife of the immune system*, Clinical & Experimental Immunology **181**, 1 (2015).
- [31] J. T. Harty, A. R. Tvinnereim, und D. W. White, *CD8+ T Cell Effector Mechanisms in Resistance to Infection*, Annual Review of Immunology **18**, 275 (2000).
- [32] E. J. Wherry und R. Ahmed, *Memory CD8 T-Cell Differentiation during Viral Infection*, Journal of Virology **78**, 5535 (2004).
- [33] J. Zhu und W. E. Paul, *Heterogeneity and plasticity of T helper cells*, Cell Research **20**, 4–12 (2009).
- [34] T. R. Mosmann und R. L. Coffman, *TH1 and TH2 Cells: Different Patterns of Lymphokine Secretion Lead to Different Functional Properties*, Annual Review of Immunology **7**, 145 (1989).
- [35] Y. Suzuki, M. Orellana, R. Schreiber, und J. Remington, *Interferon-gamma: the major mediator of resistance against Toxoplasma gondii*, Science **240**, 516 (1988).
- [36] C. T. Weaver, L. E. Harrington, P. R. Mangan, M. Gavrieli, und K. M. Murphy, *Th17: an effector CD4 T cell lineage with regulatory T cell ties*, Immunity **24**, 677 (2006).
- [37] Inflammatio, Inflammatio Website (zitiert Juni 2021).
- [38] S. Sakaguchi, N. Sakaguchi, M. Asano, M. Itoh, und M. Toda, *Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases.*, The Journal of Immunology **155**, 1151 (1995).
- [39] R. K. Gershon und K. Kondo, *Infectious immunological tolerance*, Immunology **21**, 903 (1971).
- [40] M. C. de Lafaille und J. Lafaille, *Natural and adaptive foxp3+ regulatory T cells: more of the same or a division of labor?*, Immunity **30**, 626 (2009).
- [41] S. Sakaguchi, T. Yamaguchi, T. Nomura, und M. Ono, *Regulatory T cells and immune tolerance*, Cell **133**, 775 (2008).
- [42] S. Sakaguchi, *Regulatory T Cells: History and Perspective*, edited by G. Kasiotis und A. Liston (Humana Press, 2011) pp. 3–17.

- [43] Y. Modigliani, A. Bandeira, und A. Coutinho, *A Model for Developmentally Acquired Thymus-Dependent Tolerance to Central and Peripheral Antigens*, Immunological Reviews **149**, 155 (1996).
- [44] D. Vignali, L. Collison, und C. Workman, *How regulatory T cells work*, Nature Reviews Immunology **8**, 523–532 (2008).
- [45] M. Li, S. Sanjabi, und R. Flavell, *Transforming growth factor-beta controls development, homeostasis, and tolerance of T cells by regulatory T cell-dependent and -independent mechanisms*, Immunity **25**, 455 (2006).
- [46] W. J. Grossman, J. W. Verbsky, W. Barchet, M. Colonna, J. P. Atkinson, und T. J. Ley, *Human T regulatory cells can use the perforin pathway to cause autologous target cell death*, Immunity **21**, 589 (2004).
- [47] P. Pandiyan, L. Zheng, S. Ishihara, und M. J. L. Jennifer Reed, *CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells induce cytokine deprivation-mediated apoptosis of effector CD4+ T cells*, Nature Immunology **8**, 1353–1362 (2007).
- [48] A. Chong und R. Sciammas, *Memory B Cells in Transplantation, Transplantation*, Transplantation **99**, 21 (2015).
- [49] D. Jung, C. Giallourakis, R. Mostoslavsky, und F. W. Alt, *MECHANISM AND CONTROL OF V(D)J RECOMBINATION AT THE IMMUNOGLOBULIN HEAVY CHAIN LOCUS*, Annual Review of Immunology **24**, 541 (2006).
- [50] T. Nagasawa, *Microenvironmental niches in the bone marrow required for B-cell development*, Nature Reviews Immunology **6**, 107 (2006).
- [51] N. Rosenberg und P. W. Kincadeb, *B-lineage differentiation in normal and transformed cells and the microenvironment that supports it*, Current Opinion in Immunology **6**, 203 (1994).
- [52] J. Durand, V. Huchet, E. Merieau, C. Usal, M. Chesneau, S. Remy, M. Heslan, I. Anegon, M.-C. Cuturi, S. Brouard, und E. Chiffolleau, *Regulatory B Cells with a Partial Defect in CD40 Signaling and Overexpressing Granzyme B Transfer Allograft Tolerance in Rodents*, The Journal of Immunology **195**, 5035 (2015).
- [53] D. Allman, R. C. Lindsley, W. DeMuth, K. Rudd, S. A. Shinton, und R. R. Hardy, *Resolution of Three Nonproliferative Immature Splenic B Cell Subsets Reveals Multiple Selection Points During Peripheral B Cell Maturation*, The Journal of Immunology **167**, 6834 (2001).

- [54] M. S. Cragg, C. A. Walshe, A. O. Ivanov, und M. J. Glennie, *The biology of CD20 and its potential as a target for mAb therapy*, *Curr Dir Autoimmun.* **8**, 140 (2005).
- [55] F. Melchers, E. Ten Boekel, T. Seidl, X. C. Kong, T. Yamagami, K. Onishi, T. Shimizu, A. G. Rolink, und J. Andersson, *Repertoire selection by pre-B-cell receptors and B-cell receptors, and genetic control of B-cell development from immature to mature B-cells*, *Immunological Reviews* **175**, 33 (2000).
- [56] A. Meyer-Bahlburg, S. F. Andrews, K. O. A. Yu, S. A. Porcelli, und D. J. Rawlings, *Characterization of a late transitional B cell population highly sensitive to BAFF-mediated homeostatic proliferation*, *Journal of experimental Medicine* **205**, 155–168 (2008).
- [57] J. Ollila und M. Vihinen, *B cells*, *The International Journal of Biochemistry Cell Biology* **37**, 518 (2005).
- [58] K. M. Hamel, V. M. Liarski, und M. R. Clark, *Germinal Center B-cells*, *Autoimmunity* **45**, 333 (2012).
- [59] C. C. Goodnow, C. G. Vinuesa, K. L. Randall, F. Mackay, und R. Brink, *Control systems and decision making for antibody production*, *Nature Immunology* **11**, 681 (2010).
- [60] R. D. Sanderson, P. Lalor, und M. Bernfield, *B lymphocytes express and lose syndecan at specific stages of differentiation*, *Cell Regulation* **1**, 27 (1989).
- [61] C. Mauri und A. Bosma, *Immune Regulatory Function of B Cells*, *Annual Review of Immunology* **30**, 221 (2012).
- [62] N. S. Wang, L. J. McHeyzer-Williams, S. L. Okitsu, T. P. Burris, S. L. Reiner, und M. G. McHeyzer-Williams, *Divergent transcriptional programming of class-specific B cell memory by T-bet and ROR*, *Nature Immunology* **13**, 604 (2012).
- [63] Y. J. Liu, F. Malisan, O. de Bouteiller, C. Guret, S. Lebecque, J. Banchereau, F. C. Mills, E. E. Max, und H. Martinez-Valdez, *Within germinal centers, isotype switching of immunoglobulin genes occurs after the onset of somatic mutation*, *Immunity* **4**, 241 (1996).
- [64] T. LeBien, W. Tucker, und T. Tedder, *B lymphocytes: how they develop and function*, *Blood* **112**, 1570 (2008).
- [65] D. Schatz, M. Oettinger, und M. Schlissel, *V(D)J Recombination: Molecular Biology and Regulation*, *Annual Review of Immunology* **10**, 359 (1992).

- [66] M. K. Nachtwey, Akute Nierentransplantatabstoßung in einem MHC-inkompatiblen Rattenmodell - Einfluss einer CD20+ B-Zell Depletion auf verschiedene B- und T-Zell-Subpopulationen (2020).
- [67] C. Mauri und M. Menon, *The expanding family of regulatory B cells*, International Immunology **27**, 479 (2015).
- [68] O. Thaunat, *Pathophysiologic Significance of B-Cell Clusters in Chronically Rejected Grafts*, Transplantation Journal **92**, 121 (2011).
- [69] K. Brown, S. H. Sacks, und W. Wong, *Tertiary lymphoid organs in renal allografts can be associated with donor-specific tolerance rather than rejection*, European Journal of Immunology **41**, 89 (2011).
- [70] F. Mackay und P. Schneider, *Cracking the BAFF code.*, Nature Reviews Immunology **9**, 491 (2009).
- [71] S. Nakayamada und Y. Tanaka, *BAFF- and APRIL-targeted therapy in systemic autoimmune diseases*, Inflammation and Regeneration **36** (2016).
- [72] E. S. Day, T. G. Cachero, F. Qian, Y. Sun, D. Wen, M. Pelletier, Y.-M. Hsu, und A. Whitty, *Selectivity of BAFF/BLyS and APRIL for Binding to the TNF Family Receptors BAFFR/BR3 and BCMA*, Biochemistry **44**, 1919 (2005).
- [73] C. Bossen und P. Schneider, *BAFF, APRIL and their receptors: Structure, function and signaling*, Seminars in Immunology **18**, 263 (2006).
- [74] F. Mackay und J. L. Browning, *BAFF: a fundamental survival factor for B cells*, Nature Reviews Immunology **2**, 465 (2002).
- [75] I. Moisini und A. Davidson, *BAFF: a local and systemic target in autoimmune diseases*, Clinical & Experimental Immunology **158**, 155 (2009).
- [76] L. Ng, C. Mackay, und F. Mackay, *The BAFF/APRIL system: life beyond B lymphocytes*, Molecular Immunology **42**, 763 (2005).
- [77] A. Davidson, *Targeting BAFF in autoimmunity*, Current Opinion in Immunology **22**, 732 (2010).
- [78] F. Mackay, W. A. Figgitt, D. Saulep, M. Lepage, und M. L. Hibbs, *B-cell stage and context-dependent requirements for survival signals from BAFF and the B-cell receptor*, Immunological Reviews **237**, 205 (2010).
- [79] D. Vana, *Belimumab: therapeutic mechanism and current status of clinical trials*, Biomedical Research **29**, 3034 (2018).

- [80] F. Mackay, P. Schneider, P. Rennert, und J. Browning, *BAFF and APRIL: A Tutorial on B Cell Survival*, Annual Review of Immunology **21**, 231 (2003).
- [81] J. Stavnezer und C. T. Amemiya, *Evolution of isotype switching*, Seminars in Immunology **16**, 257 (2004).
- [82] A. Kato, H. Xiao, R. T. Chustz, M. C. Liu, und R. P. Schleimer, *Local release of B cell-activating factor of the TNF family after segmental allergen challenge of allergic subjects*, The Journal of Allergy and clinical Immunology **123**, 369 (2009).
- [83] F. Martin und A. C. Chan, *B CELL IMMUNOBIOLOGY IN DISEASE: Evolving Concepts from the Clinic*, Annual Review of Immunology **24**, 467 (2006).
- [84] A. Sutherland, L. Ng, C. Fletcher, B. Shum, R. Newton, S. Grey, M. Rolph, F. Mackay, und C. Mackay, *BAFF Augments Certain Th1-Associated Inflammatory Responses*, The Journal of Immunology **174**, 5537 (2005).
- [85] A. J. Novak, J. R. Darce, B. K. Arendt, B. Harder, K. Henderson, W. Kindsvoegel, J. A. Gross, P. R. Greipp, und D. F. Jelinek, *Expression of BCMA, TACI, and BAFF-R in multiple myeloma: a mechanism for growth and survival*, Blood. **103**, 689 (2004).
- [86] G. A. Lied und A. Berstad, *Functional and Clinical Aspects of the B-Cell-Activating Factor (BAFF): A Narrative Review*, Scandinavian Journal of Immunology **73**, 1 (2011).
- [87] A. G. Shabgah, Z. Shariati-Sarabi, J. Tavakkol-Afshari, und M. Mohammadi, *The role of BAFF and APRIL in rheumatoid arthritis*, Journal of Cellular Physiology **234**, 17050 (2019).
- [88] S. Hipp, Y.-T. Tai, D. Blanset, P. Deegen, J. Wahl, O. Thomas, B. Rattel, P. J. Adam, K. C. Anderson, und M. Friedrich, *A novel BCMA/CD3 bispecific T-cell engager for the treatment of multiple myeloma induces selective lysis in vitro and in vivo*, Leukemia **31**, 1743–1751 (2017).
- [89] S.-F. Cho, K. C. Anderson, und Y.-T. Tai, *Targeting B Cell Maturation Antigen (BCMA) in Multiple Myeloma: Potential Uses of BCMA-Based Immunotherapy*, Frontiers in Immunology **9**, 1821 (2018).
- [90] D. T. Avery, S. L. Kalled, J. I. Ellyard, C. Ambrose, S. A. Bixler, M. Thien, R. Brink, F. Mackay, P. D. Hodgkin, und S. G. Tangye, *BAFF selectively enhances the survival of plasmablasts generated from human memory B cells*, The Journal of Clinical Investigation **112**, 286 (2003).

- [91] S. Morimoto, S. Nakano, T. Watanabe, Y. Tamayama, A. Mitsuo, Y. Nakiri, J. Suzuki, K. Nozawa, H. Amano, Y. Tokano, T. Kobata, und Y. Takasaki, *Expression of B-cell activating factor of the tumour necrosis factor family (BAFF) in T cells in active systemic lupus erythematosus: the role of BAFF in T cell-dependent B cell pathogenic autoantibody production*, *Rheumatology* **46**, 1083 (2007).
- [92] G. S. Cheema, V. Roschke, D. M. Hilbert, und W. Stohl, *Elevated serum B lymphocyte stimulator levels in patients with systemic immune-based rheumatic diseases*, *Arthritis & Rheumatism* **44**, 1313 (2001).
- [93] J. Groom, S. L. Kalled, A. H. Cutler, C. Olson, S. A. Woodcock, P. Schneider, J. Tschopp, T. G. Cachero, M. Batten, J. Wheway, D. Mauri, D. Cavill, T. P. Gordon, C. R. Mackay, und F. Mackay, *Association of BAFF/BLyS overexpression and altered B cell differentiation with Sjögren's syndrome*, *The Journal of Clinical Investigation* **109**, 59 (2002).
- [94] D. D. McCarthy, J. Kujawa, C. Wilson, A. Papandile, U. Poreci, E. A. Porfilio, L. Ward, M. A. Lawson, A. J. Macpherson, K. D. McCoy, Y. Pei, L. Novak, J. Y. Lee, B. A. Julian, J. Novak, A. Ranger, J. L. Gommerman, und J. L. Browning, *Mice overexpressing BAFF develop a commensal flora-dependent, IgA-associated nephropathy*, *The Journal of Clinical Investigation* **121**, 3991 (2011).
- [95] C. Kowalczyk-Quintas, D. Chevalley, L. Willen, C. Jandus, M. Vigolo, und P. Schneider, *Inhibition of Membrane-Bound BAFF by the Anti-BAFF Antibody Belimumab*, *Frontiers in Immunology* **9**, 2698 (2018).
- [96] T. Möckel, F. Basta, J. Weinmann-Menke, und A. Schwarting, *B cell activating factor (BAFF): Structure, functions, autoimmunity and clinical implications in Systemic Lupus Erythematosus (SLE)*, *Autoimmunity Reviews* **20**, 102736 (2021).
- [97] G. Banham, D. Prezzi, S. Harford, C. J. Taylor, R. Hamer, R. Higgins, J. A. Bradley, und M. R. Clatworthy, *Elevated pretransplantation soluble BAFF is associated with an increased risk of acute antibody-mediated rejection*, *Transplantation Journal* **96**, 413 (2013).
- [98] A. Lehnhardt, F. Dunst, M. van Husen, S. Loos, J. Oh, T. Eiermann, M. Koch, und M. J. Kemper, *Elevated serum levels of B-cell activating factor in pediatric renal transplant patients*, *Pediatric Nephrology* **27**, 1389 (2012).
- [99] A. Thibault-Espitia, Y. Foucher, R. Danger, T. Migone, A. Pallier, S. Castagnet, C. G.-Gueguen, A. Devys, A. C.-Gautier, M. Giral, J.-P. Soulillou,

- und S. Brouard, *BAFF and BAFF-R Levels Are Associated With Risk of Long-Term Kidney Graft Dysfunction and Development of Donor-Specific Antibodies*, *American Journal of Transplantation* **12**, 2754 (2012).
- [100] A. Schuster, B. Jung, J. Hofbauer, L. Kühne, D. Zecher, B. Banas, und T. Bergler, *B-cell activating factor BAFF reflects patients' immunological risk profile after kidney transplantation*, *Transplant Immunology* **45**, 35 (2017).
- [101] H. Xu, X. He, und R. Xu, *B Cell Activating Factor, Renal Allograft Antibody-Mediated Rejection, and Long-Term Outcome*, *Journal of Immunology Research* **2018**, 5 (2018).
- [102] E. Samy, S. Wax, B. Huard, H. Hess, und P. Schneider, *Targeting BAFF and APRIL in systemic lupus erythematosus and other antibody-associated diseases*, *International Reviews of Immunology* **36**, 3 (2017).
- [103] D. R. Patel, H. J. A. Wallweber, J. Yin, S. K. Shriver, S. A. Marsters, N. C. Gordon, M. A. Starovasnik, und R. F. Kelley, *Engineering an APRIL-specific B cell maturation antigen*, *Journal of Biological Chemistry* **279**, 16727 (2004).
- [104] J. S. Thompson, S. A. Bixler, F. Qian, K. Vora, M. L. Scott, T. G. Cachero, C. Hession, P. Schneider, I. D. Sizing, C. Mullen, K. Strauch, M. Zafari, C. D. Benjamin, J. Tschopp, J. L. Browning, und C. Ambrose, *BAFF-R, a Newly Identified TNF Receptor That Specifically Interacts with BAFF*, *Science* **293**, 2108 (2001).
- [105] S. A. Marsters, M. Yan, R. M. Pitti, P. E. Haas, V. M. Dixit, und A. Ashkenazi, *Interaction of the TNF homologues BlyS and APRIL with the TNF receptor homologues BCMA and TACI*, *Current Biology* **10**, 785 (2000).
- [106] K. Pieper, B. Grimbacher, und H. Eibel, *B-cell biology and development*, *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* **131**, 959 (2013).
- [107] L. Martín-Penagos, A. Benito-Hernández, D. San Segundo, C. Sango, A. Azueta, J. Gómez-Román, G. Fernández-Fresnedo, M. López-Hoyos, J. C. Ruiz, und E. Rodrigo, *A proliferation-inducing ligand increase precedes IgA nephropathy recurrence in kidney transplant recipients*, *Clinical Transplantation* **33**, e13502 (2019).
- [108] H. Jo, S. Han, S. Lee, J. Kim, S. Yang, H. Lee, J. Yang, J. Lee, K. Joo, C. Lim, Y. Kim, CA, J. Han, und D. Kim, *The association of tumor necrosis factor superfamily 13 with recurrence of immunoglobulin A nephropathy in living related kidney transplantation*, *BMC Nephrology* **20** (2019).

- [109] H. Xu, X. He, W. Zhao, H. Guo, Q. Shi, Y. Zhu, und X. Zhang, *CD256 can be found in antibody-mediated renal allograft rejection tissues*, *Clinical Laboratory* **58**, 411 (2012).
- [110] B. P. O'Connor, V. S. Raman, L. D. Erickson, W. J. Cook, L. K. Weaver, C. Ahonen, L.-L. Lin, G. T. Mantchev, R. J. Bram, und R. J. Noelle, *BCMA Is Essential for the Survival of Long-lived Bone Marrow Plasma Cells*, *Journal of Experimental Medicine* **199**, 91 (2004).
- [111] M. J. Benson, S. R. Dillon, E. Castigli, R. S. Geha, S. Xu, K.-P. Lam, und R. J. Noelle, *Cutting Edge: The Dependence of Plasma Cells and Independence of Memory B Cells on BAFF and APRIL*, *The Journal of Immunology* **180**, 3655 (2008).
- [112] R. F. Parsons, K. Vivek, R. R. Redfield, T.-S. Migone, M. P. Cancro, A. Naji, und H. Noorchashm, *B-lymphocyte homeostasis and BLyS-directed immunotherapy in transplantation*, *Transplantation Reviews* **24**, 207 (2010).
- [113] J. F. Trembl, Y. Hao, J. E. Stadanlick, und M. P. Cancro, *The BLyS family: toward a molecular understanding of B cell homeostasis*, *Cell Biochem Biophys* **53**, 1 (2009).
- [114] N. M. Bath, X. Ding, B. M. Verhoven, N. A. Wilson, L. Coons, A. Sukhwal, W. Zhong, und R. R. Redfield III, *Autoantibody production significantly decreased with APRIL/BLyS blockade in murine chronic rejection kidney transplant model*, *PLOS ONE* **14**, 1 (2019).
- [115] A. Senev, M. Coemans, E. Lerut, V. Van Sandt, L. Daniëls, D. Kuypers, B. Sprangers, M.-P. Emonds, und M. Naesens, *Histological picture of antibody-mediated rejection without donor-specific anti-HLA antibodies: Clinical presentation and implications for outcome*, *American Journal of Transplantation* **19**, 763 (2019).
- [116] Z. M. El-Zoghby, M. D. Stegall, D. J. Lager, W. K. Kremers, H. Amer, J. M. Gloor, und F. G. Cosio, *Identifying Specific Causes of Kidney Allograft Loss*, *American Journal of Transplantation* **9**, 527 (2009).
- [117] B. J. Orandi, E. H. K. Chow, A. Hsu, N. Gupta, K. J. Van Arendonk, J. M. Garonzik-Wang, J. R. Montgomery, C. Wickliffe, B. E. Lonze, S. M. Bagnasco, N. Alachkar, E. S. Kraus, A. M. Jackson, R. A. Montgomery, und D. L. Segev, *Quantifying Renal Allograft Loss Following Early Antibody-Mediated Rejection*, *American Journal of Transplantation* **15**, 489 (2015).
- [118] M. R. Clatworthy, *Targeting B Cells and Antibody in Transplantation*, *American Journal of Transplantation* **11**, 1359 (2011).

- [119] F. E. Lund und T. D. Randall, *Effector and regulatory B cells: modulators of CD4+ T cell immunity*, Nature Reviews Immunology **10**, 236 (2010).
- [120] A. A. Vo, M. Lukovsky, M. Toyoda, J. Wang, N. L. Reinsmoen, C.-H. Lai, A. Peng, R. Villicana, und S. C. Jordan, *Rituximab and Intravenous Immune Globulin for Desensitization during Renal Transplantation*, New England Journal of Medicine **359**, 242 (2008).
- [121] E. S. Woodle, A. R. Shields, N. S. Ejaz, B. Sadaka, A. Girnita, R. C. Walsh, R. R. Alloway, P. Brailey, M. A. Cardi, B. G. Abu Jawdeh, P. Roy-Chaudhury, A. Govil, und G. Mogilishetty, *Prospective Iterative Trial of Proteasome Inhibitor-Based Desensitization*, American Journal of Transplantation **15**, 101 (2015).
- [122] P. J. OConnell, D. R. Kuypers, R. B. Mannon, M. Abecassis, S. J. Chadban, J. S. Gill, B. Murphy, P. W. Nickerson, J. D. Schold, P. G. Stock, D. Seron, R. R. Alloway, J. S. Bromberg, K. Budde, S. C. Jordan, C. Legendre, C. Lefaucheur, M. Sarwall, D. L. Segev, M. D. Stegall, S. G. Tullius, G. Wong, E. S. Woodle, N. Ascher, und R. E. Morris, *Clinical Trials for Immunosuppression in Transplantation: The Case for Reform and Change in Direction*, Transplantation **101**, 1527 (2017).
- [123] T. Breidenbach und B. Banas, *Organspende und Transplantationsmedizin XXS pocket*, 1st ed. (Boerm Bruckmeier Verlag, 2011).
- [124] A. T. Raftery, *Principles and Practice of Renal Transplantation B. D. Kahan, C. Ponticelli 250 × 193 mm. Pp. 846. Illustrated. 2000. London: Martin Dunitz.*, BJS (British Journal of Surgery) **88**, 1270 (2001).
- [125] L. D. Cornell, R. N. Smith, und R. B. Colvin, *Kidney Transplantation: Mechanisms of Rejection and Acceptance*, Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease **3**, 189 (2008).
- [126] J. Bamoulid, O. Staeck, F. Halleck, M. Dürr, A. Paliege, N. Lachmann, S. Brakemeier, L. Liefeldt, und K. Budde, *Advances in pharmacotherapy to treat kidney transplant rejection*, Expert Opinion on Pharmacotherapy **16**, 1627 (2015).
- [127] *Special Issue: KDIGO Clinical Practice Guideline for the Care of Kidney Transplant Recipients*, American Journal of Transplantation **9**, 1 (2009).
- [128] A. Amore, *Antibody-mediated rejection*, Expert Opinion on Pharmacotherapy **20**, 536 (2015).

- [129] B. J. Nankivell, R. J. Borrows, C. L.-S. Fung, P. J. O'Connell, R. D. Allen, und J. R. Chapman, *The Natural History of Chronic Allograft Nephropathy*, New England Journal of Medicine **349**, 2326 (2003).
- [130] M. G. Krukemeyer und A. E. Lison, *Transplantationsmedizin* (De Gruyter, 2008).
- [131] K. M. Murphy, P. Travers, und M. Walport, *Janeway Immunologie*, 7th ed. (Spektrum Akademischer Verlag, 2009).
- [132] C. Wiebe, I. W. Gibson, T. D. Blydt-Hansen, M. Karpinski, J. Ho, L. J. Storsley, A. Goldberg, P. E. Birk, D. N. Rush, und P. W. Nickerson, *Evolution and Clinical Pathologic Correlations of De Novo Donor-Specific HLA Antibody Post Kidney Transplant*, American Journal of Transplantation **12**, 1157 (2012).
- [133] D. Phelan, T. Mohanakumar, S. Ramachandran, und M. D. Jendrisak, *Living donor renal transplantation in the presence of donor-specific human leukocyte antigen antibody detected by solid-phase assay*, Human Immunology **70**, 584 (2009), special Issue on Clinical Relevance of HLA Antibodies in Transplantation.
- [134] M. Willicombe, P. Brookes, R. Sergeant, E. Santos-Nunez, C. Steggar, J. Galilford, A. McLean, T. H. Cook, T. Cairns, C. Roufousse, und D. Taube, *De Novo DQ Donor-Specific Antibodies Are Associated With a Significant Risk of Antibody-Mediated Rejection and Transplant Glomerulopathy*, Transplantation Journal **94**, 172 (2012).
- [135] F. Kissmeyer-Nielsen, S. Olsen, V. P. Petersen, und O. Fjeldborg, *Hyperacute rejection of kidney allografts, associated with pre-existing humoral antibodies against donor cells*, The Lancet **288**, 662 (1966).
- [136] B. Tait, C. Süsal, H. Gebel, P. Nickerson, A. Zachary, F. Claas, E. Reed, R. Bray, P. Campbell, J. Chapman, P. Coates, R. Colvin, E. Cozzi, I. Doxiadis, S. Fuggle, J. Gill, D. Glotz, N. Lachmann, T. Mohanakumar, N. Suci-Foca, S. Sumitran-Holgersson, K. Tanabe, C. Taylor, D. Tyan, A. Webster, A. Zeevi, und G. Opelz, *Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and non-HLA antibodies in transplantation*, Transplantation Journal **95**, 19 (2013).
- [137] J. M. Devos, A. O. Gaber, L. D. Teeter, E. A. Graviss, S. J. Patel, G. A. Land, L. W. Moore, und R. J. Knight, *Intermediate-term graft loss after renal transplantation is associated with both donor-specific antibody and acute rejection*, Transplantation Journal **97**, 534 (2014).

- [138] Q. Zhang, L. W. Liang, D. W. Gjertson, C. Lassman, A. H. Wilkinson, E. Kendrick, P.-T. T. Pham, G. M. Danovitch, H. A. Gritsch, und E. F. Reed, *Development of posttransplant antidonor HLA antibodies is associated with acute humoral rejection and early graft dysfunction*, *Transplantation Journal* **79**, 591 (2005).
- [139] S. J. Fidler, A. B. Irish, W. Lim, P. Ferrari, C. S. Witt, und F. T. Christiansen, *Pre-transplant donor specific anti-HLA antibody is associated with antibody-mediated rejection, progressive graft dysfunction and patient death*, *Transplant Immunology* **28**, 148 (2013).
- [140] M. Hourmant, A. Cesbron-Gautier, P. I. Terasaki, K. Mizutani, A. Moreau, A. Meurette, J. Dantal, M. Giral, G. Blancho, D. Cantarovich, G. Karam, G. Follea, J.-P. Soulillou, und J.-D. Bignon, *Frequency and Clinical Implications of Development of Donor-Specific and Non-Donor-Specific HLA Antibodies after Kidney Transplantation*, *Journal of the American Society of Nephrology* **16**, 2804 (2005).
- [141] R. Waßmuth, *Einführung in das HLA-System*, 2nd ed. (ecomed-Verlag, 2005).
- [142] G. Opelz und B. Döhler, *Ceppellini Lecture 2012: Collateral damage from HLA mismatching in kidney transplantation*, *Tissue Antigens* **82**, 235 (2013).
- [143] R. A. Bray, C. Tarsitani, H. M. Gebel, und J.-H. Lee, in *Recent Advances in Cytometry, Part B*, *Methods in Cell Biology*, Vol. 103, edited by Z. Darzynkiewicz, E. Holden, A. Orfao, W. Telford, und D. Wlodkowicz (Academic Press, 2011) pp. 285–310.
- [144] P. I. Terasaki und J. D. McClelland, *Microdroplet Assay of Human Serum Cytotoxins*, *Nature* **204**, 998 (1964).
- [145] J. Mytilineos, C. Seidl, und G. Holzberger, *Aktueller Stand der transplantationsimmunologischen Diagnostik*, *DRK Hämotherapie* 2006 , 4 (2006).
- [146] R. A. Montgomery, B. E. Lonze, K. E. King, E. S. Kraus, L. M. Kucirka, J. E. Locke, D. S. Warren, C. E. Simpkins, N. N. Dagher, A. L. Singer, A. A. Zachary, und D. L. Segev, *Desensitization in HLA-Incompatible Kidney Recipients and Survival*, *New England Journal of Medicine* **365**, 318 (2011).
- [147] R. Patel und P. I. Terasaki, *Significance of the Positive Crossmatch Test in Kidney Transplantation*, *New England Journal of Medicine* **280**, 735 (1969).
- [148] F. H. J. Claas, M. D. Witvliet, R. J. Duquesnoy, G. G. Persijn, und I. I. N. Doxiadis, *The acceptable mismatch program as a fast tool for highly sensitized patients awaiting a cadaveric kidney transplantation: short waiting time and excellent graft outcome*, *Transplantation* **78**, 190 (2004).

- [149] N. M. Rogers, H. S. Eng, R. Yu, S. Kireta, E. Tsiopelas, G. D. Bennett, N. R. Brook, D. Gillis, G. R. Russ, und P. T. Coates, *Desensitization for renal transplantation: depletion of donor-specific anti-HLA antibodies, preservation of memory antibodies, and clinical risks*, *Transplant International* **24**, 21 (2011).
- [150] J. Thielke, P. DeChristopher, H. Sankary, J. Oberholzer, G. Testa, und E. Benedetti, *Highly Successful Living Donor Kidney Transplantation After Conversion to Negative of a Previously Positive Flow-Cytometry Cross-Match by Pretransplant Plasmapheresis*, *Transplantation Proceedings* **37**, 643 (2005).
- [151] B. E. Lonze, V. S. Tatapudi, E. P. Weldon, E. S. Min, N. M. Ali, C. L. Deterville, B. E. Gelb, J. A. Benstein, N. N. Dagher, M. Wu, und R. A. Montgomery, *IdeS (Imlifidase): A Novel Agent That Cleaves Human IgG and Permits Successful Kidney Transplantation Across High-strength Donor-specific Antibody*, *Annals of Surgery* **268**, 488 (2018).
- [152] A. Bentall, L. D. Cornell, J. M. Gloor, W. D. Park, M. J. Gandhi, J. L. Winters, M. F. Chedid, P. G. Dean, und M. D. Stegall, *Five-Year Outcomes in Living Donor Kidney Transplants With a Positive Crossmatch*, *American Journal of Transplantation* **13**, 76 (2013).
- [153] B. J. Orandi, X. Luo, A. B. Massie, J. M. Garonzik-Wang, B. E. Lonze, R. Ahmed, K. J. Van Arendonk, M. D. Stegall, S. C. Jordan, J. Oberholzer, T. B. Dunn, L. E. Ratner, S. Kapur, R. P. Pelletier, J. P. Roberts, M. L. Melcher, P. Singh, D. L. Sudan, M. P. Posner, J. M. El-Amm, R. Shapiro, M. Cooper, G. S. Lipkowitz, M. A. Rees, C. L. Marsh, B. R. Sankari, D. A. Gerber, P. W. Nelson, J. Wellen, A. Bozorgzadeh, A. O. Gaber, R. A. Montgomery, und D. L. Segev, *Survival Benefit with Kidney Transplants from HLA-Incompatible Live Donors*, *New England Journal of Medicine* **374**, 940 (2016).
- [154] E. Schwaiger, F. Eskandary, N. Kozakowski, G. Bond, Kikić, D. Yoo, S. Rasoul-Rockenschaub, R. Oberbauer, und G. A. Böhmig, *Deceased donor kidney transplantation across donor-specific antibody barriers: predictors of antibody-mediated rejection*, *Nephrology Dialysis Transplantation* **31**, 1342 (2016).
- [155] G. Bartel, M. Wahrmann, H. Regele, Kikić, G. Fischer, W. Druml, F. Mühlbacher, und G. A. Böhmig, *Peritransplant Immunoabsorption for Positive Crossmatch Deceased Donor Kidney Transplantation*, *American Journal of Transplantation* **10**, 2033 (2010).
- [156] L. E. Becker, C. Süsal, und C. Morath, *Kidney transplantation across HLA and ABO antibody barriers*, *American Journal of Transplantation* **18**, 445 (2013).

-
- [157] C. Süsal, G. Opelz, und M. C., *Role and Value of Luminex(®)-Detected HLA Antibodies before and after Kidney Transplantation*, *Transfus Med Hemother* **40**, 190 (2013).
- [158] C. Enderby und C. A. Keller, *An overview of immunosuppression in solid organ transplantation*, *Am J Manag Care* **21**, 12 (2015).
- [159] K. L. Hardinger, D. C. Brennan, und C. L. Klein, *Selection of induction therapy in kidney transplantation*, *Transplant International* **26**, 662 (2013).
- [160] P. Hill, N. Cross, A. Barnett, S. Palmer, und A. Webster, *Polyclonal and monoclonal antibodies for induction therapy in kidney transplant recipients*, *Cochrane Database of Systematic Reviews* (2017).
- [161] M. D. Denton, C. C. Magee, und M. H. Sayegh, *Immunosuppressive strategies in transplantation*, *The Lancet* **353**, 1083 (1999).
- [162] C. Gallant und P. Kenny, *Oral glucocorticoids and their complications. A review*, *Journal of the American Academy of Dermatology* **14**, 161 (1986).
- [163] S. Matsuda und S. Koyasu, *Mechanisms of action of cyclosporine*, *Immunopharmacology* **47**, 119 (2000).
- [164] A. Allison, *Mechanisms of action of mycophenolate mofetil*, *Lupus* **14**, 2 (2005).
- [165] D. Hahn, E. Hodson, L. Hamiwka, V. Lee, J. Chapman, J. Craig, und A. Webster, *Target of rapamycin inhibitors (TOR-I; sirolimus and everolimus) for primary immunosuppression in kidney transplant recipients*, *Cochrane Database of Systematic Reviews* (2019).
- [166] P. Masson, L. Henderson, J. Chapman, J. Craig, und A. Webster, *Belatacept for kidney transplant recipients*, *Cochrane Database of Systematic Reviews* (2014).
- [167] Paraffinschnitte (01.06.2021).
- [168] U. Weiß, *Das Muster lymphozytärer Subpopulationen im Rahmen chronischer-Nierentransplantatveränderungen* (2018).
- [169] W. Böcker, H. Denk, P. U. Heitz, H. Moch, G. Höfler, und H. Kreipe, *Pathologie*, 5th ed. (Urban Fischer in Elsevier, 2012).
- [170] E. M. Gibney, L. R. Cagle, B. Freed, S. E. Warnell, L. Chan, und A. C. Wiseman, *Detection of donor-specific antibodies using HLA-coated microspheres: another tool for kidney transplant risk stratification **Portions of this study*

- were delivered as an oral presentation at the American Transplant Congress, Seattle, WA, 20–25 May 2005.*, Nephrology Dialysis Transplantation **21**, 2625 (2006).
- [171] M. B. Colombo, S. E. Haworth, F. Poli, A. Nocco, G. Puglisi, A. Innocente, M. Serafini, P. Messa, und M. Scalamogna, *Luminex technology for anti-HLA antibody screening: Evaluation of performance and of impact on laboratory routine*, Cytometry Part B: Clinical Cytometry **72B**, 465 (2007).
- [172] S. Ferrari-Lacraz, J.-M. Tiercy, und J. Villard, *Detection of anti-HLA antibodies by solid-phase assay in kidney transplantation: friend or foe?*, Tissue Antigens **79**, 315 (2012).
- [173] K. M. K. Haarberg und A. R. Tambur, *Detection of donor-specific antibodies in kidney transplantation*, British Medical Bulletin **110**, 23 (2014).
- [174] N. El-Awar, J.-H. Lee, C. Tarsitani, und P. I. Terasaki, *HLA Class I Epitopes: Recognition of Binding Sites by mAbs or Eluted Alloantibody Confirmed With Single Recombinant Antigens*, Human Immunology **68**, 170 (2007).
- [175] Y.-J. Chang, X.-Y. Zhao, L.-P. Xu, X.-H. Zhang, Y. Wang, W. Han, H. Chen, F.-R. Wang, X.-D. Mo, Y.-Y. Zhang, M.-R. Huo, X.-S. Zhao, K. Y, K.-Y. Liu, und X.-J. Huang, *Donor-specific anti-human leukocyte antigen antibodies were associated with primary graft failure after unmanipulated haploidentical blood and marrow transplantation: a prospective study with randomly assigned training and validation sets*, Journal of Hematology & Oncology **8** (2015).
- [176] U. Hoffmann, T. Bergler, B. Jung, A. Steege, C. Pace, P. Rümmele, S. Reinhold, B. Krüger, B. K. Krämer, und B. Banas, *Comprehensive morphometric analysis of mononuclear cell infiltration during experimental renal allograft rejection*, Transplant Immunology **28**, 24 (2013).
- [177] R. Johnson, J. Feehally, J. Floege, und M. Tonelli, *Comprehensive Clinical Nephrology*, 3rd ed. (Mosby, Elsevier, 2007).
- [178] M. J. Sarnak, R. Bloom, P. Muntner, M. Rahman, J. M. Saland, P. W. F. Wilson, und L. Fried, *KDOQI US commentary on the 2013 KDIGO Clinical Practice Guideline for Lipid Management in CKD*, American Journal of Kidney Diseases **65**, 354 (2015).
- [179] M. Taal, G. Chertow, P. Marsden, K. Skorecki, A. Yu, und B. Brenner, *Brenner and Rector's The Kidney*, 9th ed. (Elsevier, 2012).
- [180] J. R. Chapman, P. J. O'Connell, und B. J. Nankivell, *Chronic Renal Allograft Dysfunction*, Journal of the American Society of Nephrology **16**, 3015 (2005).

- [181] L. G. Hidalgo, P. M. Campbell, B. Sis, G. Einecke, M. Mengel, J. Chang, J. Sellares, J. Reeve, und P. F. Halloran, *De Novo Donor-Specific Antibody at the Time of Kidney Transplant Biopsy Associates with Microvascular Pathology and Late Graft Failure*, American Journal of Transplantation **9**, 2532 (2009).
- [182] T. Bergler, B. Jung, F. Bourier, L. Kühne, M. C. Banas, P. Rümmele, S. Wurm, und B. Banas, *Infiltration of Macrophages Correlates with Severity of Allograft Rejection and Outcome in Human Kidney Transplantation*, PLOS ONE **11**, 1 (2016).
- [183] D. M. Summers, R. J. Johnson, J. Allen, S. V. Fuggle, D. Collett, C. J. Watson, und J. A. Bradleys, *Analysis of factors that affect outcome after transplantation of kidneys donated after cardiac death in the UK: a cohort study*, The Lancet **376**, 1303 (2010).
- [184] O. Aubert, N. Kamar, D. Vernerey, D. Viglietti, F. Martinez, J.-P. Duong-Van-Huyen, D. Eladari, J.-P. Empana, M. Rabant, J. Verine, L. Rostaing, N. Congy, C. Guilbeau-Frugier, G. Mourad, V. Garrigue, E. Morelon, M. Giral, M. Kessler, M. Ladrière, M. Delahousse, D. Glotz, C. Legendre, X. Jouven, C. Lefaucheur, und A. Loupy, *Long term outcomes of transplantation using kidneys from expanded criteria donors: prospective, population based cohort study*, BMJ **351** (2015).
- [185] M. Naesens, D. R. J. Kuypers, K. De Vusser, Y. Vanrenterghem, P. Evenepoel, K. Claes, B. Bammens, B. Meijers, und E. Lerut, *Chronic Histological Damage in Early Indication Biopsies Is an Independent Risk Factor for Late Renal Allograft Failure*, American Journal of Transplantation **13**, 86 (2013).
- [186] F. G. Cosio, M. El Ters, L. D. Cornell, C. A. Schinstock, und M. D. Stegall, *Changing Kidney Allograft Histology Early Posttransplant: Prognostic Implications of 1-Year Protocol Biopsies*, American Journal of Transplantation **16**, 194 (2016).
- [187] F. Moreso, D. Seron, F. O'Valle, M. Ibernón, M. Gomà, M. Hueso, J. M. Cruzado, O. Bestard, V. Duarte, R. García del Moral, und J. M. Grinyó, *Immunophenotype of Glomerular and Interstitial Infiltrating Cells in Protocol Renal Allograft Biopsies and Histological Diagnosis*, American Journal of Transplantation **7**, 2739 (2007).
- [188] W. W. Hancock, N. M. Thomson, und R. C. Atkins, *Composition of interstitial cellular infiltrate identified by monoclonal antibodies in renal biopsies of rejecting human renal allografts*, Transplantation **35**, 358 (1983).
- [189] D. Toki, W. Zhang, K. L. M. Hor, D. Liuwantara, S. I. Alexander, Z. Yi, R. Sharma, J. R. Chapman, B. J. Nankivell, B. Murphy, und P. J. O'Connell,

- The Role of Macrophages in the Development of Human Renal Allograft Fibrosis in the First Year After Transplantation*, American Journal of Transplantation **14**, 2126 (2014).
- [190] J. Lu, Q. Cao, D. Zheng, Y. Sun, C. Wang, X. Yu, Y. Wang, V. W. S. Lee, G. Zheng, T. K. Tan, X. Wang, S. I. Alexander, D. C. H. Harris, and Y. Wang, *Discrete functions of M2a and M2c macrophage subsets determine their relative efficacy in treating chronic kidney disease*, Kidney International **84**, 745 (2013).
- [191] J. Sellarés, D. G. de Freitas, M. Mengel, B. Sis, L. G. Hidalgo, A. J. Matas, B. Kaplan, and P. F. Halloran, *Inflammation Lesions in Kidney Transplant Biopsies: Association with Survival Is Due to the Underlying Diseases*, American Journal of Transplantation **11**, 489 (2011).
- [192] R. B. Mannon, A. J. Matas, J. Grande, R. Leduc, J. Connett, B. Kasiske, J. M. Cecka, R. S. Gaston, F. Cosio, S. Gourishankar, P. F. Halloran, L. Hunsicker, D. Rush, and for the DeKAF Investigators, *Inflammation in Areas of Tubular Atrophy in Kidney Allograft Biopsies: A Potent Predictor of Allograft Failure*, American Journal of Transplantation **10**, 2066 (2010).
- [193] A. Chang, J. M. Moore, M. L. Cowan, M. A. Josephson, W. J. Chon, R. Sciammas, Z. Du, S. R. Marino, S. M. Meehan, M. Millis, M. Z. David, J. W. Williams, and A. S. Chong, *Plasma cell densities and glomerular filtration rates predict renal allograft outcomes following acute rejection*, Transplant International **25**, 1050 (2012).
- [194] M. R. Muorah, P. A. Brogan, N. J. Sebire, R. S. Trompeter, and S. D. Marks, *Dense B cell infiltrates in paediatric renal transplant biopsies are predictive of allograft loss*, Pediatric Transplantation **13**, 217 (2009).
- [195] E. W. Tsai, P. Rianthavorn, D. W. Gjertson, W. D. Wallace, E. F. Reed, and R. B. Ettenger, *CD20+ lymphocytes in renal allografts are associated with poor graft survival in pediatric patients*, Transplantation **82**, 1769 (2006).
- [196] C. Scheepstra, F. J. Bemelman, C. van der Loos, A. T. Rowshani, K. A. M. I. van Donselaar-Van der Pant, M. M. Idu, I. J. M. ten Berge, and S. Florquin, *B Cells in Cluster or in a Scattered Pattern Do Not Correlate With Clinical Outcome of Renal Allograft Rejection*, Transplantation **86**, 772 (2008).
- [197] S. M. Bagnasco, W. Tsai, M. H. Rahman, E. S. Kraus, L. Barisoni, R. Vega, L. C. Racusen, M. Haas, B. S. Mohammed, A. A. Zachary, and R. A. Montgomery, *CD20-Positive Infiltrates in Renal Allograft Biopsies with Acute Cellular Rejection Are Not Associated with Worse Graft Survival*, American Journal of Transplantation **7**, 1968 (2007).

- [198] V. Zarkhin, N. Kambham, L. Li, S. Kwok, S.-C. Hsieh, O. Salvatierra, und M. M. Sarwal, *Characterization of intra-graft B cells during renal allograft rejection*, *Kidney International* **74**, 664 (2008).
- [199] D. Bloom, Z. Chang, K. Pauly, J. Kwun, J. Fechner, C. Hayes, M. Samaniego, und S. Knechtle, *BAFF Is Increased in Renal Transplant Patients Following Treatment with Alemtuzumab*, *American Journal of Transplantation* **9**, 1835 (2009).
- [200] H. Xu, X. He, Q. Liu, D. Shi, Y. Chen, Y. Zhu, und X. Zhang, *Abnormal High Expression of B-Cell Activating Factor Belonging to the TNF Superfamily (BAFF) Associated With Long-Term Outcome in Kidney Transplant Recipients*, *Transplantation Proceedings* **41**, 1552 (2009).
- [201] C.-Y. Sun, Y. Shen, X.-W. Chen, Y.-C. Yan, F.-X. Wu, M. Dai, T. Li, und C.-D. Yang, *The Characteristics and Significance of Locally Infiltrating B Cells in Lupus Nephritis and Their Association with Local BAFF Expression*, *International Journal of Rheumatology* , 9 (2013).
- [202] V. Pelekanou, G. Notas, K. Theodoropoulou, M. Kampa, D. Takos, V.-I. Alexaki, J. Radojicic, F. Sofras, A. Tsapis, E. N. Stathopoulos, und E. Castanas, *Detection of the TNFSF members BAFF, APRIL, TWEAK and their receptors in normal kidney and renal cell carcinomas*, *Analytical Cellular Pathology* **34**, 49 (2011).
- [203] M. A. Neusser, M. T. Lindenmeyer, I. Edenhofer, S. Gaiser, M. Kretzler, H. Regele, S. Segerer, und C. D. Cohen, *Intrarenal production of B cell survival factors in human lupus nephritis*, *Modern Pathology* **24**, 98 (2011).
- [204] M. Ittah, C. Miceli-Richard, J.-E. Gottenberg, J. Sellam, P. Eid, P. Lebon, C. Pallier, C. Lepajolec, und X. Mariette, *Viruses induce high expression of BAFF by salivary gland epithelial cells through TLR- and type-I IFN-dependent and -independent pathways*, *European Journal of Immunology* **38**, 1058 (2008).
- [205] P. S. McNamara, A. M. Fonceca, D. Howarth, J. B. Correia, J. R. Slupsky, R. E. Trinick, W. Al Turaiki, R. L. Smyth, und B. F. Flanagan, *Respiratory syncytial virus infection of airway epithelial cells, in vivo and in vitro, supports pulmonary antibody responses by inducing expression of the B cell differentiation factor BAFF*, *Thorax* **68**, 76 (2013).
- [206] S. Sampangi, X. Wang, K. W. Beagley, T. Klein, S. Afrin, H. Healy, R. Wilkinson, und A. J. Kassianos, *Human proximal tubule epithelial cells modulate autologous B-cell function*, *Nephrology Dialysis Transplantation* **30**, 1674 (2015).

- [207] U. Hoffmann, S. Segerer, P. Rümmele, B. Krüger, M. Pietrzyk, F. Hofstädter, B. Banas, und B. K. Krämer, *Expression of the chemokine receptor CXCR3 in human renal allografts—a prospective study*, Nephrology Dialysis Transplantation **21**, 1373 (2006).
- [208] P. C. Baer, J. E. Scherberich, J. Bereiter-Hahn, und H. Geiger, *Induction of RANTES, HLA-DR, and intercellular adhesion molecule-1 on highly purified distal tubular cells from human kidney*, Transplantation **69**, 2456 (2000).
- [209] O. Thaunat, N. Patey, C. Gautreau, S. Lechaton, V. Fremeaux-Bacchi, M.-C. Dieu-Nosjean, E. Cassuto-Viguier, C. Legendre, M. Delahousse, P. Lang, J.-B. Michel, und A. Nicoletti, *B cell survival in intragraft tertiary lymphoid organs after rituximab therapy*, Transplantation **85**, 1648 (2008).

Abbildungsverzeichnis

1.1	T-Helferzelltypen	11
1.2	B-Zell-Entwicklung	14
1.3	BAFF- und APRIL-Rezeptoren	16
1.4	Therapeutische Angriffspunkte von Belimumab	19
3.1	Avidin-Biotin-Reaktion	37
4.1	Spenderdaten	45
4.2	Empfängerdaten	47
4.3	Transplantationsbedingungen	47
4.4	Nachbeobachtungszeitraum	48
4.5	Infiltrierende CD68 ⁺ Makrophagen	50
4.6	Infiltrierende CD3 ⁺ T-Lymphozyten	51
4.7	Infiltrierende CD20 ⁺ B-Lymphozyten	52
4.8	Infiltrierende CD138 ⁺ Plasmazellen (einzeln)	52
4.9	Infiltrierende CD138 ⁺ Plasmazellen (geclustert)	53
4.10	B-Zell-/Makrophagenverhältnis	54
4.11	B-Zell-/T-Zellverhältnis	55
4.12	B-Zell-/Plasmazellverhältnis (einzeln)	56
4.13	B-Zell/Plasmazellverhältnis (geclustert)	56
4.14	Anzahl an HLA-MM	57
4.15	Anzahl an HLA-MM (0-3 und 4-6)	58
4.16	CD20 ⁺ B-Zellen und HLA-MM 0-6	59
4.17	Vorimmunisierung (PRA-Höchstwert)	60
4.18	Vorimmunisierung (PRA-Höchstwert: 0% und >1%)	61
4.19	Vorimmunisierung (aktueller PRA-Wert)	62
4.20	Vorimmunisierung (aktueller PRA-Wert: 0% und >1%)	62
4.21	CD20 ⁺ B-Zellen und Vorimmunisierung (PRA-Höchstwert)	63
4.22	CD20 ⁺ B-Zellen und Vorimmunisierung (aktueller PRA-Wert)	63
4.23	Patientenverteilung mit/ohne DSA	64
4.24	Patientenverteilung mit DSA	65
4.25	Spezifische DSA-Verteilung	66
4.26	CD20 ⁺ B-Zellen und DSA	67
4.27	Transplantatüberleben	68
4.28	Gesamttransplantatüberleben	68

4.29	Transplantatentwicklung	69
4.30	Transplantatüberleben (Re-Dialyse)	70
4.31	Gesamttransplantatüberleben (Re-Dialyse)	70
4.32	Transplantatfunktion	72
4.33	Transplantatfunktion (NREI und REI)	72
4.34	Transplantatfunktion (NRLI und RLI)	73
4.35	Verzögerte Transplantatfunktion	73
4.36	BAFF-Expression (tubuläre Zellen)	75
4.37	BAFF-Expression (in Glomeruli und interstitiell)	75
4.38	CD20 ⁺ B-Zellen und BAFF-Expression (tubuläre Zellen)	76
4.39	CD138 ⁺ Plasmazellen und BAFF-Expression (in Glomeruli)	77
4.40	CD138 ⁺ Plasmazellen und BAFF-Expression (interstitiell gesamt)	77
4.41	B-Zell-/BAFF-Verhältnis (interstitiell)	78
4.42	Plasmazell-/BAFF-Verhältnis (interstitiell)	79
4.43	APRIL-Expression (in Glomeruli)	80
4.44	APRIL-Expression (interstitiell einzeln und interstitiell geclustert)	80
4.45	CD20 ⁺ B-Zellen und APRIL-Expression (interstitiell einzeln und interstitiell geclustert)	81
4.46	CD138 ⁺ Plasmazellen und APRIL-Expression (in Glomeruli)	82
4.47	CD138 ⁺ Plasmazellen und APRIL-Expression (interstitiell gesamt)	82
4.48	B-Zell-/APRIL-Verhältnis (in Glomeruli)	83
4.49	B-Zell-/APRIL-Verhältnis (interstitiell)	84
4.50	Plasmazell-/APRIL-Verhältnis (in Glomeruli)	84
4.51	Plasmazell-/APRIL-Verhältnis (interstitiell)	85

Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name: Christoph
Vorname: Claudia
Geburtsdatum: 11.03.1993
Geburtsort: Lauchhammer
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: ledig

Anschrift

Straße: Neuprüll 19k
PLZ/Ort: 93051 Regensburg
Telefon: 0176/22339183
E-Mail: Claudia.Christoph@web.de

Beruflicher Werdegang

Seit 07/2016: Offizierslaufbahn der Bundeswehr, Sanitätsoffiziersanwärter
Seit 10/2016: Studium der Zahnmedizin an der Universität Regensburg
09/2017: Naturwissenschaftliche Vorprüfung (Gut: 2,0)
03/2019: Zahnärztliche Vorprüfung (Gut: 1,75)
Seit 2019: Wissenschaftliche Arbeit zur Erlangung des Doktorgrades
03/2020: 4-wöchige Famulatur, Zahnarztgruppe Feldkirchen
05/2021: Antragsstellung zur Zahnärztlichen Prüfung
07/2021: Beginn der Zahnärztlichen Prüfung
11/2021: Ende der Zahnärztlichen Prüfung (Gut: 1,59)
12/2021: Approbation als Zahnärztin
Seit 12/2021: Tätigkeitsbeginn als Truppenzahnärztin in Ingolstadt

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Tobias Bergler für die Möglichkeit dieser Dissertation in der Abteilung für Nephrologie der Fakultät für Medizin der Universität Regensburg und die Überlassung dieses vielschichtigen und interessanten Themas.

Während der Erstellung dieser Arbeit, schaffte er stets mit seiner hervorragenden, fachkundigen und vertrauensvollen Betreuung eine positive Arbeitsatmosphäre und sorgte damit stetig für Motivation. Somit hat er wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Ich danke auch für die investierte Zeit und die Mühe bei der detaillierten Durchsicht dieser Dissertation.

Eidesstattliche Erklärung

Die vorliegende Dissertation wurde angeregt und in ihrer Ausarbeitung überwacht von Prof. Dr. med. Tobias Bergler.

Ich, Claudia Christoph, geboren am 11.03.1993 in Lauchhammer, erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Insbesondere habe ich nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen. Niemand hat vor mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeit erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen. Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

.....
Ort, Datum

.....
Unterschrift