

# Lebensretter Nierentransplantation

Zur Entwicklung von Schnelltests, die eine frühzeitige Abstoßung erkennen

Für eine eindeutige Diagnostik nach einer Nierentransplantation sind bisher schmerzhafte Biopsien notwendig.

Wissenschaftlerinnen vom Institut für Technische Chemie arbeiten in Kooperation mit Sartorius und der Fassisi GmbH an Schnelltests, die ohne Eingriff in den Körper spezifische und immunologisch bedeutsame Biomarker identifizieren können.

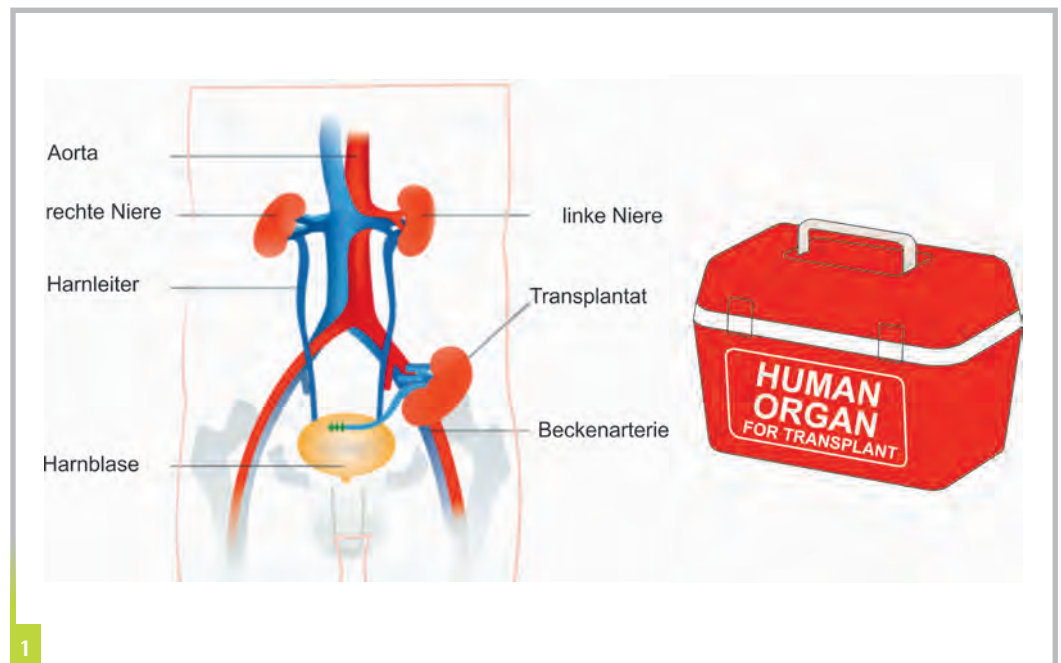


Abbildung 1  
Implantation eines Nierentransplantats.  
Quelle: KfH Kuratorium für Dialyse und Nierentransplantation e.V.

Die Niere ist das meist benötigte und transplantierte Spenderorgan. In Deutschland beträgt die Prävalenz der chronischen Niereninsuffizienz etwa 1.050 Fälle pro Million Einwohner. Die Sterblichkeit ist bereits bei geringer Einschränkung der Nierenfunktion deutlich erhöht und steigt mit zunehmender Nierenfunktionseinschränkung trotz Dialyse exponentiell an, kann aber mit der Nierentransplantation optimal behandelt werden. Seit 1995 ist die Zahl der Dialysepatient\*innen um mehr als 50 Prozent gestiegen, die der Nierentransplantierten um mehr als 70 Prozent. In Deutschland wurden 2021 insgesamt 1.992

Nieren transplantiert. Ende 2021 standen hier allerdings 11.156 Menschen auf der Warteliste für eine Niere. Man sieht die deutliche Diskrepanz zwischen durchgeführten und benötigten Nierentransplantationen in Deutschland.

Zusätzlich besteht bei transplantierten Nieren die Gefahr der Abstoßung. Ein Jahr nach der Nierentransplantation verlieren 12 Prozent der Nieren ihre Funktion, nach 5 Jahren sind es sogar 25 Prozent. Nierentransplantatempfänger\*innen unterziehen sich regelmäßigen Nachfolgeuntersuchungen, um eine mögliche Nierenabstoßung frühzeitig festzustellen und zu behan-

deln. Für die Diagnose wird meist der Anstieg des Serum-Kreatinin-Werts zum Anlass für die Durchführung einer Transplantatbiopsie genommen, diese gilt als diagnostischer Goldstandard für eine Abstoßung. Die Biopsie ist allerdings aufwändig, schmerzhaft und kann zudem mit möglichen Komplikationen wie Blutung oder Infektionsrisiko verbunden sein. Mit der Biopsie kann eine eindeutige histomorphologische Diagnose gestellt werden. Dazu werden die Biopsie-Ergebnisse nach den von der Fachgesellschaft festgelegten BANFF-Kriterien bewertet. Die Abstoßungsart wird aufgrund ihres Entstehungsursprungs einge-

teilt und unter anderem in die folgenden Kategorien eingeordnet: chronische Antikörper-vermittelte Abstoßung (=antibody mediated rejection, AMR), T-Zell-vermittelte Abstoßung (=T-cell mediated rejection, TCMR) oder Borderline-TCMR, eine begrenzte Form der TCMR. Die Klassifizierung der genauen Abstoßungsart ist wichtig, da mit ihr eine geeignete Therapie eingeleitet wird. Da der Se-

schmerz- und nebenwirkungsfreie Möglichkeit der Abstoßungsdiagnostik bieten. Schnelltests wie sogenannte „Lateral Flow Assays“ (LFAs) sind einer breiten Bevölkerungsschicht, wie in den vergangenen Jahren von den SARS-CoV-2-Antigen-Tests, bekannt. Sie bieten sich hier als sensitive Testplattform an, da sie innerhalb von Minuten nachweisen, ob der zu detektierende Biomarker zum Bei-

Kriterien wurde der Biomarker sCD25 (löslicher T-Zell-Rezeptor) während einer TCMR in Plasma und Urin als signifikant erhöht festgestellt. Zusätzlich konnte der Biomarker CXCL9 (immunologischer Signalstoff) als signifikant erhöht in Plasma und Urin bei einer chronischen AMR ermittelt werden. Zur Abgrenzung einer allgemeinen Entzündungsreaktion wurde ebenfalls der Biomarker CRP betrachtet.

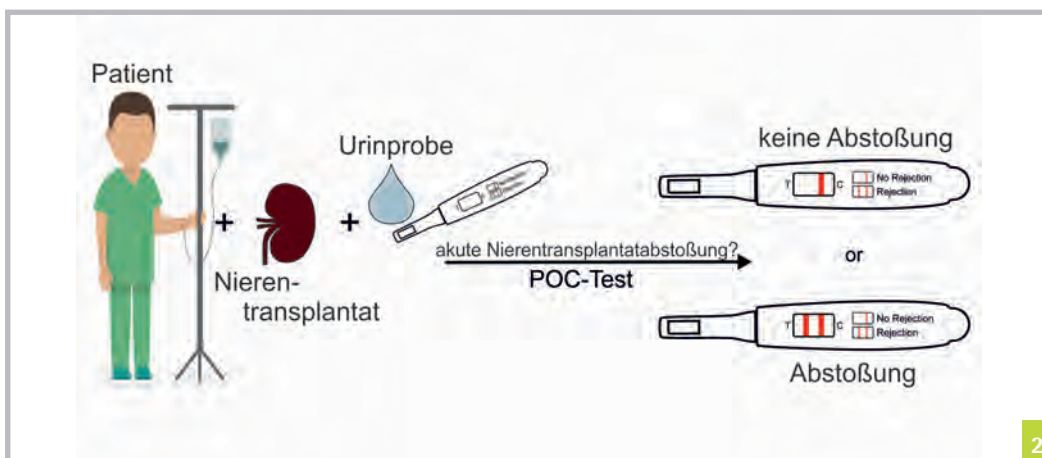


Abbildung 2  
Einsatz des Lateral Flow Assays bei einem nierentransplantierten Menschen zur Überprüfung auf Nierenabstoßung.  
Quelle: Ole Böhl und Lisa Seiler

rum-Kreatinin-Anstieg häufig auch unspezifisch andere Transplantatfunktionsstörungen anzeigt, werden Alternativen zur spezifischen Früherkennung der Nierentransplantatabstoßung gesucht. Dabei eignet sich der Nachweis spezifischer, immunologisch bedeutsamer, non-invasiver Biomarker, die unter anderem bei einer Abstoßung vom Körper produziert werden. Durch die Verwendung non-invasiver Biomarker, also solche, die ohne Eingriff in den Körper detektiert werden können, werden eventuelle Risiken während der Probennahme vermieden.

### Lateral Flow Assays – einfach, schnell, kostengünstig

Die Analyse eines non-invasiven Biomarkers könnte als Point-Of-Care-Test eine schnelle, hoch sensitive sowie

spiel im Speichel oder Urin vorliegt (Abbildung 3). Diese LFAs werden bereits neben der Identifizierung einer SARS-CoV-2-Infektion auch in weiteren Bereichen wie der Medizin (zum Beispiel Schwangerschaftstest), aber ebenso auch in der Lebensmittelsicherheit, der Tiergesundheit und der Landwirtschaft eingesetzt, da sie benutzerfreundlich sind, von ungeschultem Personal durchgeführt werden können und das Ergebnis innerhalb weniger Minuten mit dem bloßen Auge sichtbar ist. Darüber hinaus sind die Tests einfach herzustellen, leicht skalierbar und kostengünstig.

Zur Identifizierung geeigneter Biomarker wurden von nierentransplantierten Patient\*innen Urin- und Serumproben untersucht. Unter Berücksichtigung der jeweiligen Diagnose der Patient\*innen nach BANFF-

### CRP: Nachweis einer Entzündungsreaktion

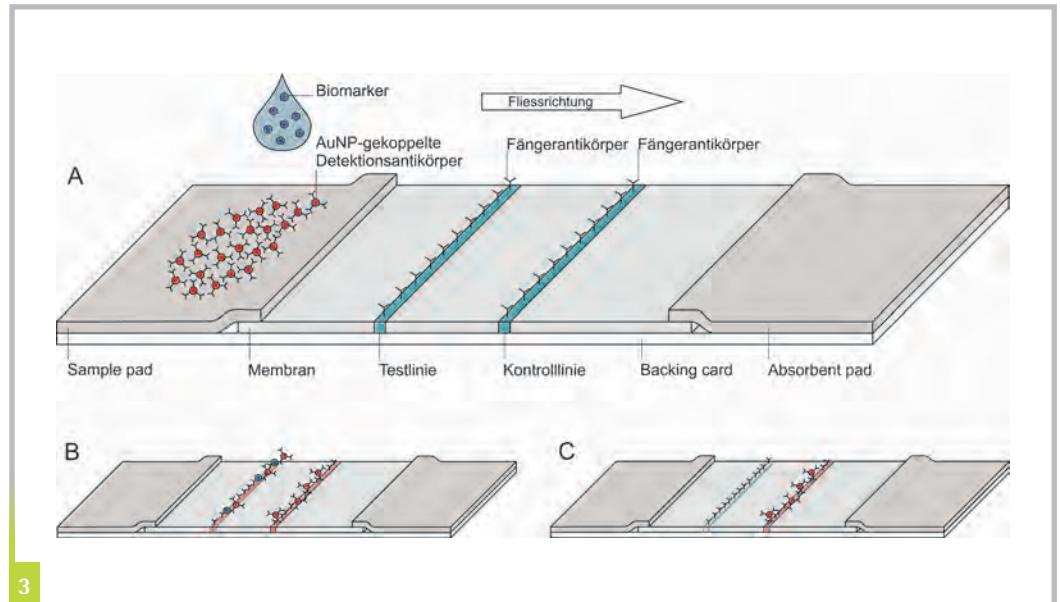
Der Biomarker CRP wird vermehrt gebildet, wenn sich im Körper eine Entzündung befindet, und steigt dann auf ein Vielfaches an. Daher wird er nicht explizit bei einer Nierenabstoßung gebildet und wird somit in dieser Arbeit als nicht-spezifischer Biomarker verwendet. Mit diesem Biomarker soll eine einfache Entzündung aufgedeckt, aber auch abgegrenzt werden können. Im Körper eines nicht erkrankten Menschen zirkuliert eine CRP-Konzentration von bis zu 10 mg·L<sup>-1</sup>. Um nun einen positiven LFA nur bei erkrankten Menschen zu erhalten, darf dieser erst CRP-Konzentrationen ab 10 mg·L<sup>-1</sup> detektieren. Bei Konzentrationen unterhalb von 10 mg·L<sup>-1</sup> soll der LFA dementsprechend ein negatives Ergebnis anzeigen. Herkömmliche LFAs zeigen

jedoch das grundsätzliche Vorhandensein eines Biomarkers und nicht deren Konzentration an. Daher musste ein LFA entwickelt werden, der CRP-Konzentrationen ab  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  detektiert.

rationen mit dem LFA detektieren zu können, wurde ausgehend von den Ergebnissen der verwendeten Antikörper ein CXCL9-spezifisches Aptamer anstelle des Detektionsantikörpers eingeführt. Aptame-

abstoßung liegt ebenfalls am unteren Limit der Nachweisgrenze von LFAs. Um ebenfalls diesen Biomarker in geringen Konzentrationen detektieren zu können, wurde sowohl die Kombination aus

Abbildung 3  
Schematische Darstellung eines Lateral Flow Assays.  
A) Darstellung der einzelnen Komponenten eines Lateral Flow Assays mit seiner Flussrichtung  
B) positiver Test  
C) negativer Test.  
Quelle: Lisa Seiler (Seiler, Lisa K., 2021: Lateral Flow Test zur Abstoßungsdiagnostik mittels Antikörper. Doktorarbeit. Institut für Technische Chemie, Leibniz Universität Hannover.)



### CXCL9: Nachweis einer Antikörper-vermittelten Abstoßung

Der Biomarker CXCL9 ist ein immunologischer Botenstoff und befindet sich während einer Abstoßungsreaktion auch als Lockstoff für Immunozyten im Transplantat. Der menschliche Körper unterscheidet nämlich zwischen „fremd“ und „selbst“, und bekämpft fremde Zellen. Dies wird in der Regel durch eine massive immununterdrückende Therapie unterbunden, dennoch kann es zu Abstoßungen mit unter anderem der Bildung von CXCL9 kommen. CXCL9 konnte vor allem bei Patient\*innen, die an einer chronischen Nierentransplantatabstoßung leiden, festgestellt werden. Herkömmliche LFAs können Biomarker nur ab einer bestimmten Konzentration detektieren. Die nachzuweisende CXCL9-Konzentration liegt jedoch unter dieser Grenze. Um auch geringe CXCL9-Konzent-

re besitzen einen anderen biologischen Aufbau als Antikörper und sind im Vergleich zu diesen auch kleiner. Dadurch haben sie einen Vorteil bei der Bindung an den Biomarker. Mit dem Sandwich-Komplex aus Fängerantikörper-Biomarker-Aptamer-Goldnanopartikel konnte CXCL9 erfolgreich auf einem LFA nachgewiesen werden.

### sCD25: Nachweis einer T-Zell-vermittelten Abstoßung

Während einer Nierenabstoßung liegt der Biomarker sCD25, der Teil des Rezeptors von immunaktivierten T-Zellen darstellt, löslich in Blut und Urin von Nierentransplantierten vor. Er konnte vor allem bei Patient\*innen, die an einer T-Zell-vermittelten Abstoßung leiden, festgestellt werden.

Die sCD25-Konzentration zum Zeitpunkt einer Nieren-

Detektionsantikörper und Goldnanopartikel optimiert als auch die Proben vorweg zusammen mit dem Detektionsantikörper inkubiert, sodass hier ausreichend Zeit für eine Bindung zwischen dem Detektionsantikörper und den sCD25-Molekülen eingegangen werden konnte und somit die Sensitivität gesteigert wurde.

### Vom Labor in die Praxis

Zur Überprüfung der LFAs wurden Proben von nierentransplantierten Menschen mit verschiedenen Abstoßungs-Diagnosen sowie Proben von Nierentransplantierten, die keine Abstoßung aufgewiesen haben, untersucht. Dabei konnte bei dem LFA zur Detektion von CXCL9 eine Sensitivität von 53 Prozent bei einer Spezifität von 71 Prozent erreicht werden. Der LFA zur Detektion von sCD25 konnte eine Sensitivität von 87,5 Pro-

zent und eine Spezifität von 84,6 Prozent erzielen. Da die Ausarbeitung der LFAs durch die Förderstelle EFRE (Europäischer Fond für regionale Entwicklung) bewusst unter Beratung und in Kooperation mit einer biotechnologischen Firma zur Produktion marktfähiger LFAs finanziert wurde, ist der nächste Schritt, mit

**Was bringt die Zukunft?**

Es wurden systematische Ansätze für insgesamt drei LFAs zur Früherkennung einer Abstoßung (sCD25, CXCL9) und Differenzialdiagnose einer systemischen Entzündungsreaktion (CRP) nach einer Nierentransplantation entwickelt. Zusätzliche Validierungen der

Ort und nicht-invasiv einengen zu können und somit Kontroll-Biopsien mit erhöhten Risikofaktoren, Kosten und Zeitaufwand auf ein Minimum zu reduzieren.

Auf Literaturangaben musste in diesem Artikel verzichtet werden. Verweise auf die im Rahmen des EFRE-Projektes

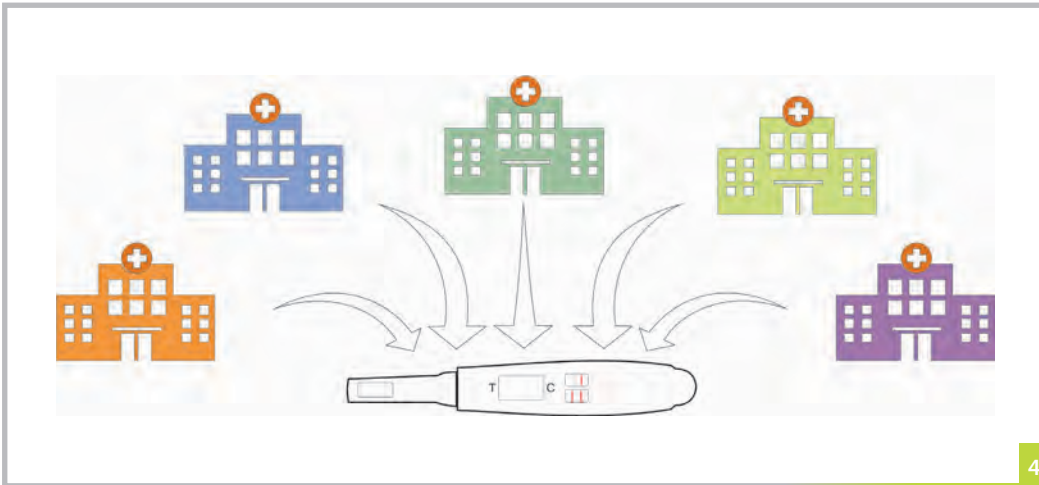


Abbildung 4  
Validierung der Lateral Flow Assays mittels einer Multicenterstudie.  
Quelle: Lisa Seiler

dieser Firma (Fassisi AG, Göttingen) die Markteinführung der LFAs zur Detektion von sCD25 und CXCL9 anzugehen und an verschiedensten Transplantationszentren in Deutschland zu validieren. Beide LFAs wurden bereits jeweils in einer Fachzeitschrift veröffentlicht.

LFAs müssen mit weiteren Patientenproben aus verschiedenen klinischen Zentren durchgeführt werden. Die drei LFAs bieten künftig die Möglichkeit, die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Transplantatabstoßung nach vorangegangener Nierentransplantation frühzeitig, einfach, vor

entstandenen Veröffentlichungen finden sich im LUH-FIS unter: <http://go.lu-h.de/yUGsN>.

**Lisa Seiler**  
**Rebecca Jonczyk**  
**Cornelia Blume**

→ Weitere Informationen siehe Autor\*innenseiten.



VON DER

# IDEE

ZUM

# PRODUKT

**BERUFSBEGLEITENDE WEITERBILDUNG**  
**„TRANSLATIONALE FORSCHUNG UND MEDIZIN“**

für Fachkräfte in Medizin, Wissenschaft, Industrie & Behörden

**JETZT ONLINE INFORMIEREN & BEWERBEN**

[www.translationsallianz.de/academy](http://www.translationsallianz.de/academy)

**TRAIN** Academy