



Aus dem Transplantationszentrum München
Klinikum Großhadern
der Ludwig-Maximilians-Universität
Leiter: Prof. Dr. med. Bruno Meiser

Klinische Relevanz einer Desensibilisierung vor ABO-inkompatibler Nierentransplantation bzw. bei Vorliegen Donor-spezifischer HLA- Antikörper

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der
Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von
Sandra Klimaschewski
aus

Dinslaken

2016

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. Antje Habicht

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. Stephan Lederer

Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Teresa Kauke

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 04.02.2016

*Für meine Schwester
Marisa*

INHALTSVERZEICHNIS

| | Seite |
|--|-------|
| 1 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS..... | 7 |
| 2 EINLEITUNG..... | 9 |
| 2.1 Hintergrund der Arbeit..... | 9 |
| 2.2 Nierentransplantation..... | 10 |
| 2.3 Das humane Leukozytenantigen (HLA)-System..... | 11 |
| 2.3.1 HLA-System..... | 11 |
| 2.3.2 Bedeutung HLA-Matching..... | 12 |
| 2.3.3 HLA-Antikörper..... | 12 |
| 2.4 Nachweis HLA-Antikörper..... | 14 |
| 2.4.1 Lymphozytotoxizitätstest..... | 14 |
| 2.4.2 Enzyme Linked Immuno-sorbent Assay (ELISA)..... | 15 |
| 2.4.3 Luminex®..... | 16 |
| 2.4.4 Bedeutung der detektierten HLA-Antikörper in den hochsensitiven Verfahren (z.B. Luminex)..... | 17 |
| 2.5 Protokolle bei DSA..... | 18 |
| 2.6 AB0-Blutgruppensystem | 21 |
| 2.7 Transplantation bei AB0-Inkompatibilität..... | 23 |
| 2.8 Nebenwirkungen der immunsuppressiven Therapie..... | 25 |
| 2.9 Ziel der Arbeit..... | 27 |
| 3 MATERIAL UND METHODEN..... | 28 |
| 3.1 Material und Geräte..... | 28 |
| 3.1.1 Verbrauchsartikel und mehrfach verwendbare Materialien..... | 28 |
| 3.1.2 Geräte..... | 30 |
| 3.1.3 Software..... | 30 |
| 3.2 Methoden und Datenerhebung..... | 31 |
| 3.2.1 Patientenkollektiv..... | 31 |
| 3.2.2 Datenquellen..... | 31 |
| 3.2.3 Parameter..... | 31 |
| 3.3 Behandlungsstrategien..... | 32 |

| | |
|---|-----------|
| 3.3.1 Plasmapherese..... | 34 |
| 3.3.2 Immunadsorption..... | 35 |
| 3.4 Diagnostik..... | 36 |
| 3.4.1 Antikörperdiagnostik..... | 36 |
| 3.4.2 HLA-Typisierung (SSP-PCR)..... | 36 |
| 3.4.3 Kreuzprobe..... | 37 |
| 3.4.4 HLA-Antikörper (Luminex)..... | 38 |
| 3.4.5 Isoagglutinin-Antikörper..... | 40 |
| 3.4.6 BKV-Screening..... | 40 |
| 3.4.7 Biopsien..... | 41 |
| 3.4.8 C4d..... | 43 |
| 3.4.9 BKV-Nephropathie..... | 43 |
| 3.5 Statistik..... | 43 |
| 4 ERGEBNISSE..... | 45 |
| 4.1 Patientencharakteristika..... | 45 |
| 4.2 Vorbehandlung und Antikörper-Titer..... | 46 |
| 4.2.1 Anzahl der Immunabsorptionen in der AB0i-Gruppe..... | 46 |
| 4.2.2 Anzahl der Plasmapheresen in der DSA-Gruppe..... | 47 |
| 4.3 Patienten-/Transplantat-Überleben..... | 47 |
| 4.4 Nierenfunktion..... | 48 |
| 4.4.1 Initiale Funktionsaufnahme..... | 48 |
| 4.4.2 Nierenfunktion im Verlauf..... | 48 |
| 4.4.3 Proteinurie..... | 49 |
| 4.4.4 Gewinn/Verlust der Nierenfunktion innerhalb des ersten Jahres.... | 49 |
| 4.5 Abstoßungen..... | 50 |
| 4.6 Verlauf der DSA- bzw. nDSA-Titer postoperativ..... | 51 |
| 4.6.1 Persistenz der präexistierenden HLA-AK..... | 51 |
| 4.6.2 Entwicklung von deNovo HLA-AK..... | 53 |
| 4.7 Virale Infektionen..... | 54 |
| 4.7.1 BKV..... | 54 |
| 4.7.2 CMV..... | 56 |
| 5 DISKUSSION..... | 58 |
| 5.1 Diskussion der Ergebnisse..... | 58 |
| 5.2 Limitationen der Studie..... | 65 |

| | |
|----------------------------------|----|
| 5.3 Diskussion der Methodik..... | 66 |
| 6 ZUSAMMENFASSUNG..... | 67 |
| 7 LITERATURVERZEICHNIS..... | 68 |
| 8 ABBILDUNGSVERZEICHNIS..... | 76 |
| 9 TABELLENVERZEICHNIS..... | 77 |
| 10 DANKSAGUNG..... | 78 |

1 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

| | |
|-------|---|
| AB0i | AB0 inkompatibel |
| AMR | antibody mediated rejection |
| ATG | Anti-thymocyte globulin |
| | |
| BMI | Body mass index |
| BKN | BK-Virus Nephropathie |
| BKV | Humanes Polyomavirus 1, erstmals 1971 im Urin eines nierentransplantierten Patienten mit den Initialen B.K. isoliert |
| | |
| CMV | Cytomegalievirus |
| CRP | C-reaktives Protein |
| CTN | engl. chronic allograft nephropathie |
| CDC | Complement dependent cytotoxicity |
| | |
| DSA | Donor-spezifische Antikörper |
| DGF | verzögerte Transplantatfunktion (delayed graft function), definiert als Fortbestehen der Dialysepflicht innerhalb der ersten postoperativen Woche |
| Di. | Diagnose |
| dl | Deziliter |
| DMARD | engl. Disease modifying antirheumatic drug |
| | |
| EBV | Ebstein-Barr-Virus |
| ELISA | Enzyme-Linked Immuno-sorbent Assay |
| | |
| FSGS | Fokale segmentale Glomerulosklerose |
| | |
| GFR | Glomeruläre Filtrationsrate |
| g | Gramm |
| gE | Gramm Eiweiß |
| gKrea | Gramm Kreatinin |
| | |
| HSV | Herpes simplex Virus |
| HLA | Humane Leukozytenantigene |
| HD | Hämodialyse |
| | |
| IA | Immunadsorption |
| Ig | Immunglobulin |
| IS | Immunsuppression |
| i.v. | intravenös |
| | |
| KIZ | Kalte Ischämiezeit, Beginn der kalten Perfusion bis zur Entnahme |

| | |
|------|---|
| | der Niere aus dem Eis (maximal 48 Stunden) |
| kg | Kilogramm |
| KG | Körpergewicht |
| LCT | Lymphozytotoxizitätstest |
| LPS | Lipopolysaccharid |
| LDK | Living donor kidney |
| MDRD | Modifikation of Diet in Renal Disease Formel: $GFR(\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2) = 186 \times (\text{Krea})^{-1,154} \times (\text{Alter})^{-0,203} (\times 0,742 \text{ bei Frauen})$ |
| mg | Milligramm |
| MFI | Mean fluorescence intensity |
| MMF | Mycophenolate-Mofetil |
| nDSA | nicht-Donor-spezifische Antikörper |
| NKF | National Kidney Foundation |
| NTx | Nierentransplantation |
| ng | Nanogramm |
| n | Anzahl |
| PD | Peritonealdialyse |
| PCR | Polymerase-Ketten-Reaktion |
| PRA | Panelreaktivität |
| PE | Plasmapherese |
| p.o. | per os |
| PTC | engl. peritubular capillaries |
| SSP | sequenzspezifische Primer |
| SAB | Single antigen beads |
| Th. | Therapie |
| Tx | Transplantation |
| µg | Mikrogramm |
| VZV | Varicella zoster Virus |

2 EINLEITUNG

2.1 Hintergrund der Arbeit

Die Inzidenz einer terminalen Niereninsuffizienz ist in den letzten Dekaden weltweit angestiegen. Eine bedeutsame Ursache hierfür stellt zum Beispiel die Zunahme des metabolischen Syndroms mit den Begleiterkrankungen eines Diabetes Mellitus Typ-2 und eines Hypertonus dar, die die Hauptursachen einer terminalen Niereninsuffizienz in den westlichen Ländern sind [1]. Eine terminale Niereninsuffizienz, bedeutet dass Patienten lebenslang auf eine Nierenersatztherapie (Hämodialyse, Peritonealdialyse) angewiesen sind, es sei denn, Ihnen kann ein funktionstüchtiges Nierentransplantat eines verstorbenen oder lebenden Spenders übertragen werden. Lässt der gesundheitliche Zustand des Patienten eine Nierentransplantation zu, ist diese bei erfolgreichem Verlauf am ehesten geeignet, Gesundheit, Wohlbefinden, körperliche Leistungs- und Arbeitsfähigkeit sowie die soziale Integration wieder herzustellen. Ferner verlängert eine erfolgreiche Nierentransplantation die Überlebenswahrscheinlichkeit im Vergleich zu einer chronischen Dialysebehandlung signifikant [2].

Zurzeit leben nach Angaben der Kassenärztlichen Bundesvereinigung ca. 61.000 dialysepflichtige Patienten in Deutschland. Genauere Zahlen können auf Grund eines fehlenden Registers leider nicht erfasst werden. Laut EUROTRANSPLANT waren hiervon Ende 2012 in Deutschland 7645 Patienten für eine Nierentransplantation gelistet [3], allerdings werden in Deutschland derzeit ca. nur 3000 Nieren/Jahr transplantiert. Eine der Ursachen hierfür ist die mangelnde Bereitschaft für eine postmortale Organspende in der deutschen Bevölkerung. Nur 20% Prozent der deutschen Bundesbürger (entspricht im Bundesdurchschnitt 12,8 Spender/ eine Millionen Einwohner) haben ihre Entscheidung zur Organspende in einem Organspendeausweis festgehalten [4]. Die Organspendebereitschaft in Deutschland ist somit im Vergleich zu anderen europäischen Ländern, wie z.B. Spanien (33,7 Spender/ eine Millionen Einwohner) eher gering [5]. Durch den Transplantationsskandal im Jahr 2012/2013 ist diese sogar weiter gesunken. Von Januar bis Oktober 2013 konnten bundesweit nur 754 Organspenden realisiert werden, im Jahr 2012 waren es in diesem Zeitraum noch 892. Dies entspricht einem Rückgang von -15.5 Prozent [6]. Aufgrund der zunehmenden Inzidenz der terminalen

Niereninsuffizienz und dem Mangel an potentiellen postmortalen Organspendern müssen dialysepflichtige Patienten, die prinzipiell transplantierbar wären, in Deutschland derzeit im Mittel 7-8 Jahre auf ein postmortales Nierenangebot warten. Eine Lebendnierenspende kann diese Wartezeit wesentlich verkürzen.

2.2 Nierentransplantation

Wie bereits erwähnt ist eine Nierentransplantation für Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz das Nierenersatzverfahren, das die Lebenserwartung sowie die Lebensqualität im Vergleich zu einer chronischen Dialysebehandlung signifikant verbessert. [2] Hier stehen zwei Modalitäten zur Verfügung:

1. Lebendnierenspende (Spende einer Niere eines lebenden Menschen)
2. Leichennierentransplantation (postmortale Spende), bei der die Niere eines hirntoten Spenders transplantiert wird

Im Vergleich zu einer Nierentransplantation nach postmortaler Spende ist eine Nierenlebenspende für den Empfänger das optimale Therapieverfahren, da

- 1.) die Wartezeit auf eine Spende deutlich kürzer ist bzw. keine Wartezeit anfällt (prä-emptive Transplantation) und folglich das Fortschreiten der renalen Begleiterkrankungen im Vergleich zur Dialysebehandlung verzögert wird [7]
- 2.) es eine planbare Operation mit kurzer kalter Ischämiezeit ist [8]
- 3.) es ein Organ von einem per definitionem gesunden Spender ist [8]
- 4.) dadurch statistisch ein längeres Transplantat-Überleben gegeben ist [9]
- 5.) als Folge der geringeren Begleiterkrankung und besseren Transplantatfunktion, das Patientenüberleben verlängert wird [7].

Aus statistischer Sicht arbeitet eine transplantierte Niere nach postmortaler Spende durchschnittlich zwölf Jahre, wobei längere Funktionszeiten über mehrere Jahrzehnte durchaus möglich sind. Das Transplantatüberleben nach Lebendspende

liegt mit 15 Jahren durchschnittlich zehn Prozent über dem der Leichennierentransplantation. [10]

Aufgrund der zunehmend längeren Wartezeit auf ein postmortales Organangebot aber auch aufgrund der qualitativen Vorteile wurde der Anteil der Nierentransplantationen nach Nierenlebenspende in Deutschland in den letzten Jahren deutlich erhöht. Während im Jahr 2007 in Deutschland 567 Nierentransplantationen nach einer Lebenspende durchgeführt wurden [11], waren es im Vergleich hierzu 2011 schon 795 Lebendnierentransplantationen [12]. Damit liegt der Anteil der Nierentransplantationen nach Lebendnierenspende in Deutschland momentan bei ca. 30%.

Als Spender kommen laut Transplantationsgesetz z.B. Verwandte I. oder II. Grades in Frage, sowie Ehepartner, Verlobte und andere Personen, die dem Spender in besonderer persönlicher Verbundenheit offenkundig nahe stehen. Ferner muss die Person volljährig und einwilligungsfähig sein und nach einer umfangreichen Aufklärung, auch in die Entnahme eingewilligt haben. Eine Voraussetzung für die Zulässigkeit der Organentnahme stellt zudem eine ärztliche Beurteilung dar, die den Spender für die Nierenspende geeignet (gesund) erklärt und versichert, dass der Spender nicht über den unmittelbaren Eingriff hinaus schwer beeinträchtigt wird.

2.3 Das humane Leukozytenantigen (HLA)-System

2.3.1 HLA-System

HLA-Antigene spielen eine wichtige Rolle bei dem Vorgang der körpereigenen Immunisierung gegen körperfremde Strukturen und haben als „Gewebeverträglichkeitsmerkmale“ eine bedeutende Funktion bei Transplantationen. Der erste Antikörper gegen ein Gewebeantigenesystem MAC (heute: HLA-A2) wurde 1958 durch Jean Dausset beschrieben, der im Blut von mehrfach transfundierten Patienten die Entdeckung der humanen Leukozytenantigene (HLA-Antigene) eingeleitet hat [13]. Die Gene, die für die Produkte der HLA-Antigene kodieren, liegen eng benachbart auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6. Diesen Abschnitt wird auch als Haupthistokompatibilitätskomplex bezeichnet.

Die Genregionen A, B und C, die die HLA-Klasse-I-Antigene kodieren, befinden sich auf der telomeren Seite des Chromosomenarms. HLA-Klasse-I-Antigene sind

unveränderliche Oberflächenmerkmale (Proteine), die auf der Zelloberfläche aller kernhaltigen Zellen und Thrombozyten eines Menschen exprimiert werden. Sie werden von CD8⁺ zytotoxischen T-Lymphozyten erkannt und über deren T-Zellrezeptor gebunden.

Die HLA-Klasse-II-Antigene werden durch die in Richtung Zentromer gelegenen Subklassen DR, DP und DQ kodiert. HLA-Klasse-II-Antigene sind unveränderliche Oberflächenmerkmale, welche im Gegensatz zu den HLA-Klasse-I-Antigenen nur auf B-Lymphozyten und Antigen-präsentierenden Zellen (APZ), wie z.B. Makrophagen und Dendritische Zellen, exprimiert werden. HLA-Klasse-II-Antigene interagieren mit CD4⁺ T-Helferzellen, die so zur Differenzierung und Aktivierung angeregt werden.

2.3.2 Bedeutung HLA-Matching

Die Stimulation des Immunsystems durch Erkennung der HLA-Merkmale des Spenders wird als Alloreaktivität bezeichnet. Ausmaß und Stärke der Alloreaktion korreliert mit den Unterschieden zwischen den HLA-Merkmalen des Spenders und des Empfängers („mismatches“). Eine möglichst große Übereinstimmung der HLA-Merkmale von Spender und Empfänger minimiert das Risiko einer Transplantatabstoßung und verlängert das Transplantatüberleben [14,15]. Eine zunehmende Anzahl an Fehlpaarungen (engl. „Mismatches“) der HLA-A, HLA-B und HLA-DR Merkmale zwischen Spender und Empfänger dagegen verkürzt das Transplantatüberleben laut *Opelz et al.* [16,17,18] signifikant. Dabei wird dem HLA-DR Locus auf das Transplantatüberleben der stärkste Einfluss der HLA Kompatibilität beigemessen, gefolgt vom HLA-B Locus, während eine HLA-A Inkompatibilität den geringsten Effekt [19] zu haben scheint. Für die Nierentransplantation ist dies von besonderer Bedeutung, da *Faull et al.* 1989 das Vorhandensein von HLA-DR-Antigenen auch auf renalen Tubuluszellen nachgewiesen hat [20]. Zudem konnten von *Muczynski et al.* HLA-DR, -DQ und -DP Merkmale auf mikrovaskulären Endothelzellen der Niere nachweisen, weshalb auch der Einfluss der Übereinstimmungen auf den HLA-DQ-Regionen diskutiert wird.

2.3.3 HLA-Antikörper

Über eine Aktivierung der B-Lymphozyten kann das menschliche Immunsystem Antikörper gegen körperfremde Proteine bilden. Solche Antikörper können auch

gegen körperfremde HLA-Antigene gebildet werden und werden dann als HLA-Antikörper bezeichnet. HLA-Antikörper werden im Rahmen von Schwangerschaften, Transplantationen und nach Bluttransfusionen gebildet. Während einer Schwangerschaft oder der Geburt treten geringe Mengen kindlichen Blutes in den mütterlichen Kreislauf über. Für die Mutter bedeutet dies einen immunologischen Kontakt mit fremden HLA-Antigenen, weil kindliche Blutzellen grundsätzlich einen HLA-Haplotyp des Vaters aufweisen. Folglich können spezifische HLA-Antikörper gegen die paternalen (väterlichen) Antigene produziert werden. So findet man bei einem Großteil der Frauen nach der Schwangerschaft zirkulierende HLA-Antikörper im Blut, vor allem bei Frauen die mehrere Kinder geboren haben. Allerdings fallen diese Antikörper im Laufe der Zeit häufig unter die Nachweisgrenze ab und sind dann nicht mehr diagnostisch nachweisbar. Sie können jedoch jederzeit bei erneutem Antigenkontakt geboostert werden und wieder ansteigen. [21]

Da Blutspender in der Regel eine andere HLA-Konstellation als der Patient aufweist, bedeutet jeder Kontakt des Patientenimmunsystems mit den Zellen eines Blutspenders Kontakt mit fremden HLA-Antigenen.

Die Immunisierungsrate gegen diese HLA-Merkmale nach wiederholten Bluttransfusionen ist abhängig von der Zahl transfundierter Leukozyten [22]. Eine konsequente Verringerung der Kontamination mit weißen Blutzellen auf $<1 \times 10^6$ pro transfundiertem Blutzellpräparat führt zu einer signifikanten Senkung der Immunisierungsrate [23,24]. Geeignete leukozytendepletierende Verfahren sind z.B. die Leukozytenfiltration bei der Herstellung der Thrombozytenpräparate, die Verwendung moderner Zellseparatoren oder eine Bestrahlung des Thrombozytenkonzentrates mit kurzwelligem Licht (UVB) [25,26,27].

Der stärkste Immunisierungsvorgang stellt allerdings der Kontakt mit fremden HLA-Antigenen im Rahmen einer Transplantation dar. Diese Entdeckung führte unter anderem zur Bezeichnung „Haupt-Histokompatibilitätsantigene“. Bei einer Organtransplantation von einem Spender auf einen genetisch nicht identischen Empfänger, wird das transplantierte Gewebe vom Empfänger als fremd erkannt. Über eine Aktivierung der B-Lymphozyten werden eine Reihe von immunologischen Mechanismen ausgelöst, die das Gewebe schädigen und im schlimmsten Fall zerstören. Die Stärke dieser Abstoßungsreaktion hängt in erster Linie davon ab, inwieweit sich Empfänger und Transplantat in den Gewebemerkmale unterscheiden [33] und ist eine der Hauptursachen für einen Transplantatverlust [29]. *Lefaucheur et*

al. [44] beschreiben in ihrer Arbeit, dass das höchste Risiko für einen Verlust des Nierentransplantats bei einer humoralen Immunreaktion besteht, mit Bindung von Antikörpern und Komplement an Endothelien der Blutgefäße im Spendergewebe.

Terasaki et al. [28] konnte nachweisen, dass nach einer Abstoßungsreaktion 96% der Patienten HLA-Antikörper aufwiesen. Das Auftreten von HLA-Antikörpern im Serum der transplantierten Patienten kann einem Abstoßungsvorgang Jahre vorausgehen und ist ein negativer Prädiktor für das Transplantatüberleben.

Laut *Siegmund-Schultze* [2] haben ca. ein Drittel der Dialysepatienten, die auf eine neue Niere warten, präformierte HLA-Antikörper, die durch rasche Reaktivierbarkeit, lange Lebensdauer und geringes Ansprechen auf Immunsuppressiva gekennzeichnet sind. Eine HLA-Sensibilisierung verlängert die Wartezeit und reduziert die Transplantationswahrscheinlichkeit, da die Kreuzprobe mit den Zellen eines potentiellen Spenders oft positiv ausfällt [30]. Das Matching von Transplantatempfänger und Organspender ist daher unverzichtbar.

2.4 Nachweis HLA-Antikörper

2.4.1 Lymphozytotoxizitätstest

Der von *Terasaki* entwickelte Lymphozytotoxizitätstest (LCT) [31] war das erste Testsystem für die Erkennung und Spezifizierung von HLA-Antikörpern und wird nach folgendem Prinzip durchgeführt: Spenderlymphozyten (= Zielzelle mit einer Kombination von HLA-Antigenen) werden mithilfe eines Dichtegradienten aus antikoaguliertem Blut gewonnen. Das antikörperhaltige Serum des Empfängers wird zu den Lymphozyten hinzugegeben. Nach der Bindung der Antikörper an die Lymphozyten wird Komplement hinzu pipettiert, welches von dem Antikörper-Lymphozyten Komplex aktiviert wird und die Zielzelle abtötet (= zytotoxisch). Dieser Vorgang wird mittels hinzugefügten Farbstoffs (z.B. Eosin) sichtbar gemacht. Die Reaktivität des Antikörpers mit der Zelle wird hierbei also nicht über die reine Bindung detektiert, sondern über die Funktion der Komplement-Aktivierung. Dies wiederum hat zur Folge, dass nur komplementbindende Antikörper der Immunglobulinklassen IgM, IgG1 und IgG3 erkannt werden können.

Mit sehr geringen Materialmengen ist es so möglich, ein Serum gegen ein Panel von Testlymphozyten (ca. 40 -50 Spender) mit bekannten HLA-Merkmalen zu testen und den Grad der „Immunsierung“ des potentiellen Empfängers als prozentuale **Panelreaktivität** (PRA-Wert) anzugeben. So wird zum Beispiel eine positive Reaktion auf 5 von 50 Spenderlymphozyten als ein PRA von 10% bezeichnet.

Ferner ist die Verwendung der LCT-Technik bei der Durchführung des obligatorischen lymphozytären Crossmatches (Kreuzprobe) vor Nierentransplantation, zwingend vorgeschrieben, da laut *Claas et al.* den LCT-reaktiven „zytotoxischen“ HLA-Antikörpern auch heute noch die größte Relevanz für Abstoßungsreaktionen bei Transplantationen zugesprochen wird [32]. Eine positive Kreuzprobe stellt eine absolute Kontraindikation für eine geplante Nierentransplantation dar.

Da HLA-Klasse II-Antigene im peripheren Blut nur im geringen Maße und oft instabil auf B-Lymphozyten exprimiert werden [33] ist der Nachweis von HLA-Klasse II-Antikörpern mittels LCT-Technik erschwert. Zudem sind humorale Abstoßungen nach Transplantationen bekannt, bei denen keine zytotoxischen HLA-Antikörper nachgewiesen worden sind oder das lymphozytäre Crossmatch negativ war. Deshalb wurden in den letzten Jahren empfindlichere Tests (z.B. ELISA, Luminex) für den Nachweis von HLA-Antikörpern entwickelt bei denen eine reine Bindung der Antikörper an HLA-Antigene nachgewiesen wird und die unter dem Oberbegriff „Ligandenbindungstests“ zusammengefasst werden. Mit diesen Methoden können sowohl zytotoxische und nicht zytotoxische anti-HLA-Antikörper gegen HLA-Klasse I- und/oder HLA-Klasse II-Antigene nachgewiesen werden. Zudem kann der Nachweis von Komplement-aktivierenden anti-HLA-Antikörpern der Isotypen IgM, IgG1 und IgG3, als auch von den nicht-Komplement-aktivierenden anti-HLA-Antikörpern IgA, IgG2 und IgG4 erbracht werden.

2.4.2 Enzyme Linked Immuno-sorbent Assay (ELISA)

Das Prinzip des immunologischen ELISA-Nachweisverfahrens beruht auf der Eigenschaft spezifisch enzymmarkierter Antikörper an bestimmte Antigene zu binden. Im Falle einer erfolgten Antikörper-Antigen-Bindung kommt es nach Zugabe eines Substrates zu einem Farbumschlag. Die aufgereinigten HLA-Klasse I-Antigene für diesen Test stammen aus humanen Thrombozyten und die HLA-Klasse II-Antigene

aus EBV transformierten B-Lymphozyten. Die Antigene werden direkt auf die Polystyroloberfläche einer Mikrotiterplatte adsorbiert. Die Antikörper aus dem Patientenserum binden an diese Antigene und durch Zugabe enzymmarkierter, in erster Linie gegen humanes IgG gerichteter Antikörper kann der Antikörper-Antigen-Komplex nachgewiesen werden. Eine Bestimmung der Spezifität der anti-HLA-Antikörper (Differenzierung) ist nicht möglich, nur eine qualitative „ja/nein-Antwort“.

2.4.3 Luminex®

Eine wichtige Weiterentwicklung in der Diagnostik der Alloreaktivität ist die Luminex-Technologie. Mit dem Partikel-basierten Immunoassay der Luminex®-Technologie (Biotechnology Corporation, Austin, Texas, United States) ist die simultane quantitative und qualitative Analyse von HLA-Antikörpern möglich. Hierbei nutzt man Polystyrolkugeln (sogenannte Beads), die durch spektrale Überlappung von zwei Fluoreszenzfarbstoffen (Rot und Infrarot) in 100 verschiedene Bead-Typen unterschieden werden können. An diese Beads werden HLA-Glykoproteine chemisch angekoppelt. Nach Inkubation mit Patientenserum binden anti-HLA-IgG-Antikörper der HLA-Klasse I und II an die komplementären Glykoproteine. Durch Zugabe eines Detektionsantikörpers (Phycoerythrin mit gebundenen Antihuman-IgG-Konjugat), können gebundene HLA-Antikörper anhand der Kopplung und der daraus resultierenden Fluoreszenzstrahlung mittels Fluoreszenzmeßung detektiert werden und die Spezifität der HLA-Antikörper bestimmt werden. Anhand der Signalintensität (Mean Fluorescence Intensity = MFI) der einzelnen Beads können die HLA-Antikörper quantifiziert werden. Aufgrund der Unterscheidbarkeit der Beads, können bis zu hundert verschiedene Nachweisreaktionen simultan und vollautomatisch durchgeführt werden.

Somit ist mittels Luminex der Nachweis für Antikörper gegen HLA-Klasse I und – Klasse II gesondert möglich. Auch die HLA-Klassen Spezifizierung ist sehr gut reproduzierbar.

Die Methode hat eine sehr hohe Sensitivität bei der Detektion und Identifizierung von HLA-Antikörpern, ferner können Antigenspezifitäten (z.B. donor-spezifisch vs. nicht donor spezifisch) zuverlässig bestimmt werden.

Die unterschiedlichen Antikörpernachweise sind in der Reihenfolge LCT, ELISA und Luminex® immer sensitiver. Die Ligandenbindungstests ELISA und/oder LUMINEX

können im Vergleich zur LCT-Technik bei bis zu 20-50% mehr Patienten HLA-Antikörper detektieren [33], allerdings sind beide Verfahren rein quantitative Nachweise und geben keine Auskunft über eine biologische Wirksamkeit über eine Komplexenaktivierung.

2.4.4 Bedeutung der detektierten HLA-Antikörper in den hochsensitiven Verfahren (z.B. Luminex)

Trotz der inzwischen weit verbreiteten Anwendung der Luminex Technik ist die Datenlage hinsichtlich der biologischen Signifikanz des hochsensitiven Anti-HLA Antikörper Nachweises derzeit noch nicht ausreichend, da nicht zwischen Komplement bindenden (= zytotoxischen) und nicht-Komplement bindenden (= nicht zytotoxischen) Antikörpern unterschieden werden kann.

Die Vorhersagkraft des Luminex Tests hinsichtlich eines negativen Ereignisses, wie eine akute Abstoßung oder dem Risiko eines Transplantatverlustes, wird kontrovers diskutiert [34,35]. So konnte *Billen et al.* zeigen, dass die 5-Jahres-Transplantat-Überlebensrate in Patienten mit einem isoliert positiven HLA-Klasse I- Luminex-Test bei gleichzeitig negativem LCT um ca. 30% niedriger ausfiel als in einer Kontrollgruppe ohne Antikörpernachweis [36]. Ebenfalls fanden *Amico et al.* [92,93] bei LCT-Crossmatch negativen Patienten mit donor-spezifischen HLA-Antikörpern im Luminex eine um etwa 50% höhere Rate an Antikörper-vermittelten Abstoßungsreaktionen, die gleichzeitig eine um 20% geringere 5-Jahres-Transplantatüberlebensrate aufwiesen. Auch Kollegen der Charité Berlin [37] konnten bei 1014 Patienten zeigen, dass mittels Luminex diagnostizierte neu aufgetretene „deNovo“ HLA Antikörper, (sowohl donorspezifische-, als auch non-donor-spezifische) 5 Jahre nach postmortaler Nierenspende einen schädlichen Einfluss auf das Transplantatüberleben haben.

Im Gegenteil zu diesen Ergebnissen demonstrierten *Süsal et al.* dass der Nachweis von donor-spezifischen Antikörpern, die nur mittels Luminex-Identifikationstest detektiert wurden (bei gleichzeitig negativem LCT und negativen ELISA) das Risiko eines Transplantatverlustes in 118 Patienten innerhalb der ersten drei Jahre nach Transplantation im Vergleich zu einer gleich großen Kontrollgruppe nicht erhöht war. *Loupy et al.* [38] konnten zeigen, daß eine zusätzliche Bestimmung einer C1q Komplementbindung im Luminexverfahren die Aussagekraft des Test hinsichtlich der

biologischen Aktivität der Antikörper deutlich verbessert. So hatten Patienten, die mittels Luminex Technik C1q-bindende donor-spezifische HLA-Antikörper aufwiesen, die niedrigste 5-Jahres-Transplantat-Überlebensrate (54%) im Vergleich zu Patienten mit nicht-komplementbindenden donor-spezifischen HLA-Antikörpern (93%) und Patienten ohne donor-spezifische HLA-Antikörper (94%; jeweils $p < 0,001$).

Circa ein Drittel der Nierenpatienten, die auf ein neues Organ warten, haben präformierte Antikörper gegen HLA-Merkmale und aufgrund dieser Sensibilisierung, eine signifikant erhöhte Wartezeit [75].

Die Einführung von Festphasen-Assays, wie z.B. die Luminex-Technologie, die eine sensitive und spezifische Identifikation von spenderspezifischen Anti-HLA-Antikörper erlaubt, könnte die Spender- und Empfängerselektion noch weiter beeinflussen und letztlich zu einer weiteren Zunahme der Wartezeit von immunisierten-Empfängern und zu einer Ablehnung potentieller Lebendnierenspender führen [40, 76, 77].

2.5 Protokolle bei DSA

In den letzten Jahren haben deshalb viele Transplantationszentren Desensibilisierungstherapien entwickelt, die eine Nierentransplantation bei immunisierten Patienten ermöglichen, die donor-spezifische Anti-HLA-Antikörper gegen ihre potentiellen Spender ausbilden [39].

Durch die Desensibilisierung sollen die zirkulierenden HLA-Antikörper vor der Transplantation entfernt bzw. gesenkt (z.B. mittels Plasmapherese, Immunadsorption) und eine Neubildung verhindert werden (z.B. Splenektomie, anti-CD-20-Antikörper).

Hierfür stehen verschiedene Desensibilisierungsstrategien beim Nachweis von DSA vor der geplanten Lebendnierentransplantation zur Verfügung:

- Immunabsorption, ein extrakorporales Verfahren zur therapeutischen Entfernung von Autoantikörpern/Immunkomplexen. Hierbei wird, nach der Separation des Plasmas von den festen Blutbestandteilen (z.B. Erythrozyten), das Plasma über einen spezifischen Adsorber (=eine mit Antigenen beschichtete Membran) geleitet, die spezifischen Antikörper binden an die membrangebundenen Antigene, wodurch das Plasma gereinigt wird und dem Patienten zurückgeführt werden kann. Diese selektive Methode

ermöglicht eine Antikörperextraktion ohne signifikante Plasmaverluste. Eine Substitutionslösung muss nicht verabreicht werden.

- Plasmaaustausch/Plasmapherese, ein extrakorporales Austauschverfahren zur therapeutischen Entfernung von Autoantikörpern/Immunkomplexen. Hierbei wird das komplette Plasma mit allen Bestandteilen (wie z.B. Antikörpern, Gerinnungsfaktoren etc.) unspezifisch nach der Separation durch Filter oder Zentrifuge verworfen. Durch die Extraktion des kompletten Blutplasmas, ist ein Ausgleich des Plasmaverlustes, durch eine Substitution (z.B. Humanalbumin) und zusätzliche Gabe von Gerinnungsfaktoren (z.B. Frischplasmakonzentrate) nötig.
- Splenektomie, chirurgische Entfernung der Milz, mit dem Ziel, durch die Reduktion des lymphatischen Systems, eine verminderte Antikörperproduktion zu erzielen
- Der Anti-CD20-Antikörper (Rituximab), ist ein biotechnologisch hergestellter Antikörper, der zu einer selektiven Depletion CD-20-positiver B-Zell-Subpopulationen führt und somit eine Neubildung von Antikörpern im Empfänger verhindern soll.
- Intravenöse Immunglobuline (IVIg), Ersatz fehlender Antikörper (IgG und im geringen Anteil IgA).

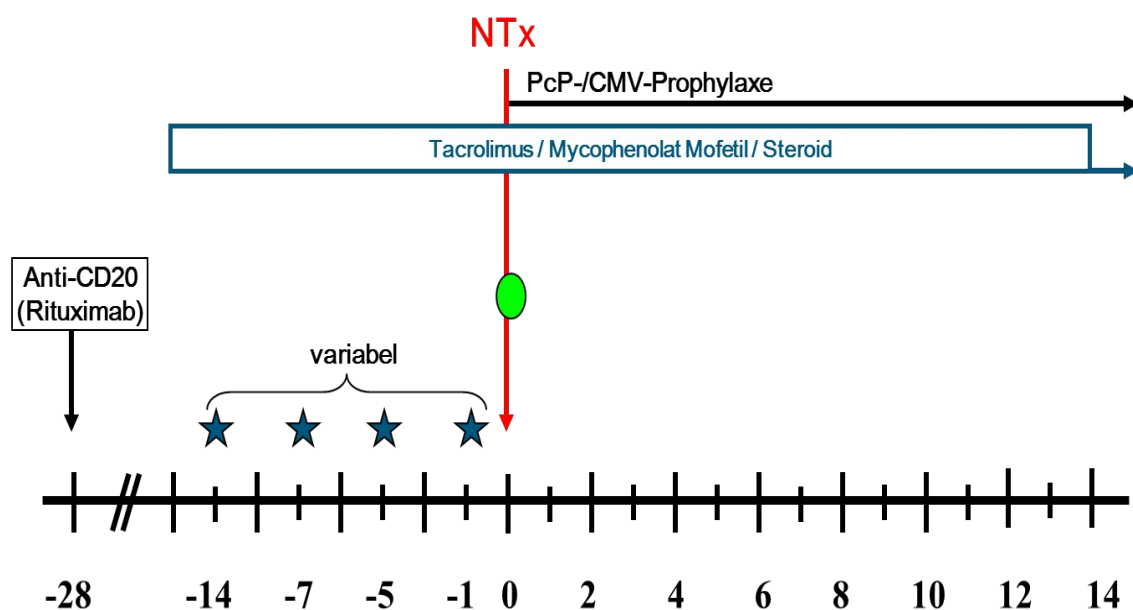


Abb.1: Beispiel eines Konditionierungsprotokolls bei DSA-Nierenlebenspende unter Einsatz von Plasmapheresebehandlungen und Rituximab

Zahlen unter der Achse stehen für den prä- bzw. postoperativen Tag in Bezug zum Tag der Transplantation, der grüne Kreis gibt den Behandlungsbeginn der ATG-Therapie und die blauen Sterne den Zeitpunkt der Plasmapheresebehandlungen an. Sechs Plasmapheresebehandlungen wurden routinemäßig vor der Transplantation durchgeführt.

Abkürzungen: Anti-CD20 = Rituximab, NTx = Zeitpunkt der Nierentransplantation, PcP= *Pneumocystis-jirovecii*-Pneumonie, CMV= Cytomegalievirus.

Ein international standardisiertes Protokoll für eine Desensibilisierungstherapie vor einer geplanten Nierentransplantation bei hoch immunisierten DSA-Patienten existiert bislang nicht [41].

Robert Montgomery von der Johns Hopkins University School of Medicine in Baltimore und seine Mitarbeiter waren unter den ersten, die ihr Protokoll veröffentlichten [39]. Hierbei werden mehrfache Plasmapheresen in der Woche vor und in den ersten Tagen nach der Organtransplantation wiederholt durchgeführt, um die problematischen HLA-Antikörper zu entfernen. Zusätzlich erhalten die Patienten nach jeder Plasmapherese eine Infusion mit Immunglobulinen in einer Dosis von 100mg pro Kilogramm Körpergewicht. Die Anzahl der Behandlungen vor und nach der Transplantation variiert mit der Höhe des HLA-Antikörper-Titers. Die Induktionstherapie besteht aus Daclizumab oder Antithymozytenglobulin. Die immunsuppressive Erhaltungstherapie besteht aus Mycophenolat-Mofetil (Dosis von 2mg pro Tag), Tacrolimus (Ziel-Serumspiegel: 8-12ng/ml) sowie Steroiden.

Im Rahmen einer Therapieintensivierung kombinierte *Beimler et al.* [43] die Plasmapherese mit dem monoklonalen Antikörper Rituximab und erzielte gute 2-Jahres-Ergebnisse bei HLA-sensibilisierten Allograft Empfängern. Somit hat sich auch zunehmend die Gabe des CD20-Antikörpers Rituximab als Anti-B-Zell-Therapie bei Patienten mit HLA Antikörpern, insbesondere auch mit donor-spezifischen Antikörpern, bewährt.

Eine weitere Desensibilisierungsstrategie verfolgen *Lorenz et al.* [42], die unter Verwendung von Immunabsorptionsbehandlungen erfolgreiche Ergebnisse

veröffentlichten. Sie zeigten die Wirksamkeit von Immunadsorptionen prä- und postoperativ, kombiniert mit einer präemptiven Antilymphozyten-Antikörper-Therapie.

2.6 AB0-Blutgruppensystem

Das AB0-System, von Karl Landsteiner 1901 entdeckt, ist das wichtigste Blutgruppenmerkmal bei der Bluttransfusion und umfasst vier verschiedene Hauptgruppen: A, B, AB und 0. Die Blutgruppe A besteht aus 2 Untergruppen (A1, A2), wobei ca. 80 % der Bevölkerung mit Blutgruppe A den Subtyp A1 exprimieren.

Die AB-Antigene sind terminale Verzweigungen von Kohlenhydratketten, die an Lipide (Glykolipide) und Proteine (Glykoproteine) angeheftet sind. Bei der Blutgruppe 0 besteht das Antigen aus einem Trisaccharid (Galaktose, N-Acetylgalaktosamin und Fructose), das als H-Antigen bezeichnet wird [45]. Die ABO-Antigene werden primär auf der Oberfläche von Erythrozyten exprimiert. Allerdings sind sie auch auf zahlreichen anderen Geweben und Zellen wie Leukozyten, Thrombozyten, und Epithel- bzw. Endothelzellen in Lunge, Herz, Leber und Niere zu finden (Glynn und Holborow 1959). Die Antigenexpression von A2 ist sowohl quantitativ, als auch qualitativ geringer als bei A1 und das immunologische Risiko basierend auf der Antigenexpression alleine ist $A1 > B > A2$. Die Allele der A und B-Blutgruppenmerkmale werden kodominant vererbt während das Allel für die Blutgruppe 0 gegen die rezessiv A und B-Blutgruppenmerkmale verhält. Die Blutgruppenhäufigkeit ist der Abbildung 2 zu entnehmen [46].

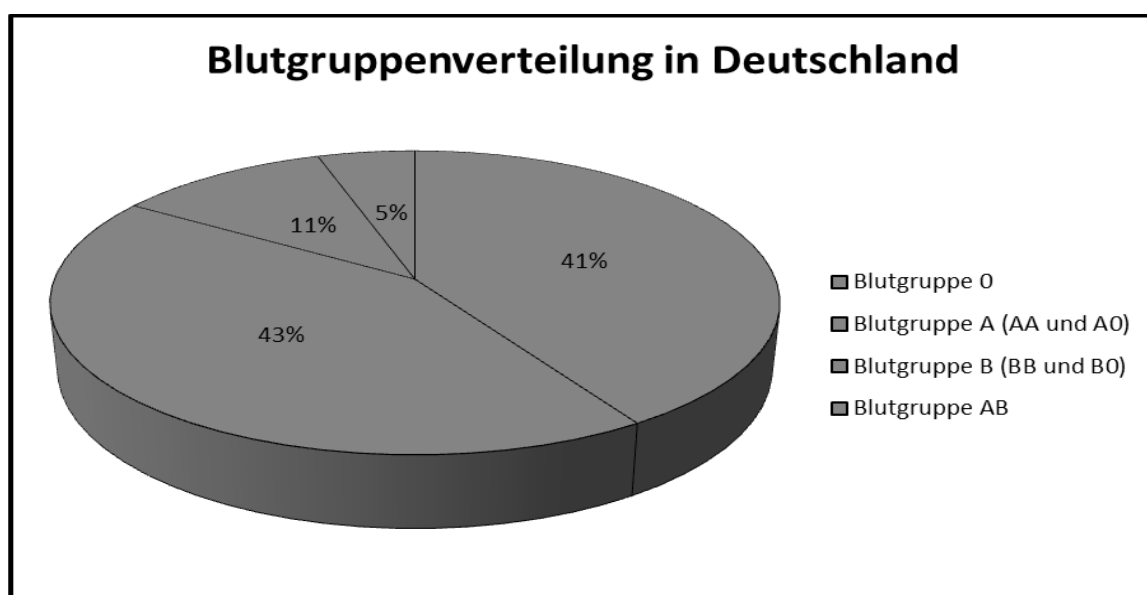


Abb. 2: Blutgruppenverteilung in Prozent in Deutschland

Im Gegensatz zu anderen Blutgruppensystemen liegen im AB0-System immer Antikörper, die sogenannten AB0-Isoagglutinine, die gegen die körperfremde AB0-Blutgruppenantigene gerichtet sind, im Menschen vor. So entwickeln Personen der Blutgruppe A Anti-B-Isoagglutinine, Personen der Blutgruppe B Anti-A1- und/oder Anti-A2-Isoagglutinine und Patienten der Blutgruppe 0 entwickeln Anti-A1-, Anti-A2- und Anti-B-Isoagglutinine. Personen mit der Blutgruppe AB weisen keine Isoagglutinine auf. Individuen mit der Blutgruppe 0 weisen in der Regel höhere Isoagglutinin Titer gegen B und A Antigene auf im Vergleich zu Individuen mit der Blutgruppe A (Anti-B-Isoagglutinine) oder mit der Blutgruppe B (Anti-A-Isoagglutinine). Im Gegensatz zu den AB0-Antigenen sind AB0-Isoagglutinine nicht von Geburt an vorhanden. Sie entstehen als Antwort auf Kohlenhydratmoleküle, die von verschiedenen Darmbakterien exponiert werden und den AB0-Antigene ähneln [45]. Die Isoagglutinin-Titer steigen erst physiologisch bis ca. zum zehnten Lebensjahr an und fallen mit zunehmendem Alter wieder ab.

Werden nicht kompatible Blutgruppen im Rahmen einer Bluttransfusion oder einer Organtransplantation übertragen reagieren AB0-Isoagglutinine des Empfängers mit den AB0-Antigenen der Spenderzellen und es kommt innerhalb weniger Stunden zu einer IgM getriggerten Agglutination der Erythrozyten und Hämolyse bzw. hyperakuten Organabstoßung. Deshalb galt die AB0-Inkompatibilität lange als absolute Kontraindikation für eine Organtransplantation und in der „Richtlinie für die Wartelistenführung und die Organvermittlung“ der Bundesärztekammer (§ 16 Abs.1 S.1 und 5 Transplantationsgesetz) wird die Kompatibilität im AB0-Blutgruppensystem gefordert. Eine AB0-Inkompatibilität zwischen Empfänger und Spender ist in ca. 30% verantwortlich für die Ablehnungen einer potentiellen Lebensspende [47], sodass hierdurch die Zahl der zu Verfügung stehenden Organe von Lebendspendern deutlich eingeschränkt wird.

2.7 Transplantation bei AB0-Inkompatibilität

Das Bestreben die immunologische Barriere des AB0-Blutgruppensystems im Rahmen von Transplantationen zu überwinden, hat deshalb in den letzten Jahren deutlich zugenommen. Die Entwicklung neuer immunsuppressiver Medikamente und moderner Techniken erleichtern die effektive Elimination von präformierten Isoagglutininen und ermöglichen die Nierentransplantation über die AB0-Blutgruppen-Grenze hinweg, ohne eine hyperakute Abstoßung zu riskieren [48,49]. Aufgrund der guten Kurzzeit- (*Egawa et al. 2011* [50]) und Langzeitresultate (*Takahashi et al. 2006* [51]) in Hinblick auf das Transplantat- und Patientenüberleben nach AB0-inkompatible Lebendnierenspende, die vergleichbar derer nach AB0-kompatibler Lebendnierenspenden sind, hat die ABOi Transplantation international an Bedeutung gewonnen. Die AB0-inkompatible Lebendnierentransplantation stellt aktuell zwar eine kostenintensive, aber effektive und sichere Behandlungsoption dar.

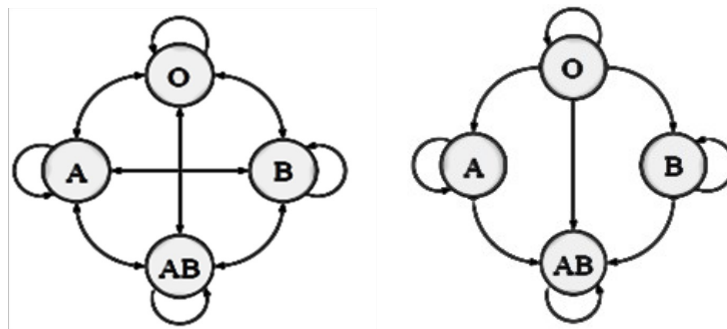


Abb. 3: Vergleich der möglichen Blutgruppenkonstellationen bei AB0-kompatibler (rechts) und AB0-inkomptibler (links) Organtransplantation

Bei einer ABOi Transplantation werden, wie bei der Transplantation über HLA-Grenzen, zwei Ziele verfolgt:

1. Die Entfernung der zirkulierenden AB0-Isoagglutinine (z.B. Plasmapherese, antigenspezifische Immunadsorption)
2. Die Verhinderung der Neubildung von AB0-Isoagglutinen des Empfängers gegen die des Spenders (z.B. Splenektomie, Rituximab-Gabe)

Lange Zeit war die häufigste zur Antikörperelimination verwendete Methode die Plasmapherese in Kombination mit einer Splenektomie. Vor allem in Japan wurde von 2000 bis 2004 die Splenektomie als fester Bestandteil des Behandlungsprotokolls aufgenommen (Splenektomie, Plasmapherese und immunsuppressive Erhaltungstherapie mit Cyclosporin A, Azathioprin und Methylprednisolon) [52]. *Gloor et al.* [53] stellten die Notwendigkeit einer Splenektomie in Frage und verglichen das konventionelle Protokoll (präoperative Plasmapherese, IVIG und Splenektomie) mit einem Protokoll mit anti-CD-20-Antikörper und intensivierter postoperativer Plasmapherese und IVIG. Es zeigten sich bezüglich des Patienten- und Transplantatüberlebens bzw. der Inzidenz humoraler Abstoßungen keine signifikanten Unterschiede.[53]

Neben *Gloor et al.* [53] konnten auch *Sonnenday et al.* [54] zeigen, dass die Splenektomie bei der Desensibilisierung durch die Gabe des anti-CD20-Antikörpers Rituximab ersetzt werden kann.

Es existieren auch zwei Berichte über kleinere Versuchsserien, die auch ohne die Gabe von Rituximab erfolgreich waren [55,56]. 2003 veröffentlicht *Tyden et al.* [57,58,59] eine neue prä- und postoperative Methode, mit derer man spezifisch die Isoagglutinin-Antikörper mittels Antigen-spezifischer Immunadsorptionssäule mit A oder B Blutgruppenantigenen entfernen kann (Glycosorb A/B® columns, Glycorex Transplantation AB, Lund, Sweden). Bei dieser antigen-spezifischen Therapie werden nur die zirkulierenden AB0i-Antikörper entfernt, nicht aber Gerinnungsfaktoren und andere Plasmabestandteile, was unter anderem weniger Infekte und Blutungen zu Folge hat [57,58,59].

Die Desensibilisierung, aus einer Kombination mit einer Einzeldosis Rituximab, der Antigen-spezifischen Immunadsorption und der intravenösen Immunglobulingabe und hat sich inzwischen in mehr als 20 europäischen Zentren etabliert [60-65].

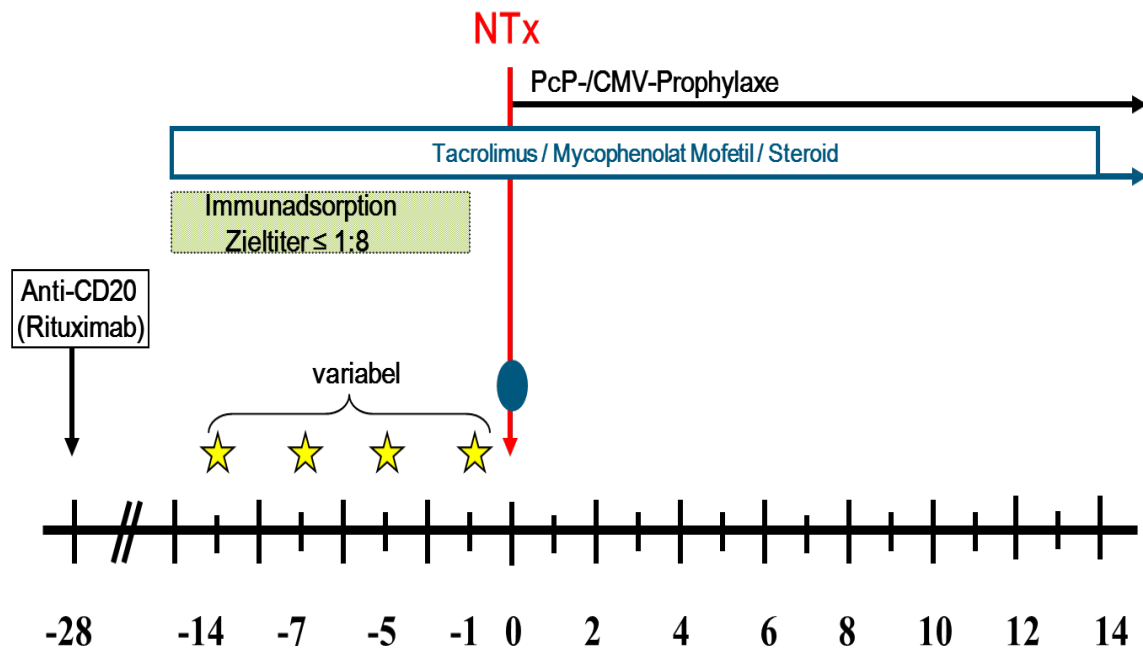


Abb.4: Beispiel eines Konditionierungsprotokolls bei AB0-inkompatibler Nierenlebenspende unter Einsatz antigenspezifischer Immunadsorption und Rituximab

Zahlen unter der Achse stehen für den prä- bzw. postoperativen Tag in Bezug zum Tag der Transplantation, der blaue Kreis gibt den Behandlungsbeginn der ATG-Therapie und die gelben Sterne den Zeitpunkt der Immunadsorptionsbehandlungen an. Die Anzahl der Immunadsorptionsbehandlungen hängt vom Isoagglutinintiter vor Behandlungsbeginn ab.

Abkürzungen: Anti-CD20 = Rituximab, NTx = Zeitpunkt der Nierentransplantation, PcP= Pneumocystis-jirovecii-Pneumonie, CMV= Cytomegalievirus.

2.8 Nebenwirkungen der immunsuppressiven Therapie

Die lebenslange immunsuppressive Therapie die nach einer Nierentransplantation von Nöten ist führt zu multiplen Nebenwirkungen und Begleiterscheinungen. Durch Unterdrückung der spezifischen und unspezifischen Immunantwort steigt das infektiöse Risiko nach Transplantation deutlich an. So kommt es bei etwa 49% der Patienten im Laufe des ersten Jahres nach Transplantation zu infektiösen Komplikationen [66]. Mit 31% leiden die meisten Patienten an Harnwegsinfekten, gefolgt von Cytomegalievirus-Infekten (12%) und Wundinfektionen (10%). Bei

nierentransplantierten Patienten gehört die intensive Immunsuppression unbestritten auch zu den Risikofaktoren für eine BK-Virus-Infektion [67]. Beispiele für bakterielle Erreger sind *Salmonella* spp., *Legionella* spp., *Nocardia* spp. und *Listeria monocytogenes* [66,68]. Die größte Mortalität findet sich jedoch bei Infektionen mit Hefepilzen und Myzelien [68]. Das Cytomegalievirus (CMV) und das BK-Virus (BKV) stellen die Hauptvertreter viraler Infektionen dar.

Das Cytomegalievirus gehört zur Familie der Herpesviren und kann grundsätzlich alle inneren Organe befallen. Etwa 30-60% aller Patienten, die eine neue Niere erhalten, entwickeln eine CMV-Infektion im Verlauf nach ihrer Transplantation [69]. Es wird zwischen einer „CMV-Infektion“ mit unspezifischen Symptomen (z.B. Müdigkeit, Abgeschlagenheit, Fieber, CMV-Virämie) und einer „CMV-Erkrankung“ mit Organbefall, wie z.B. CMV-Colitis, unterschieden. Erkranken kann der Patient an einer CMV-Reaktivierung, d.h. der Patient hatte schon vor seiner Transplantation Kontakt mit dem Virus (= CMV-IgG-positiver Empfänger) und das Virus wird aufgrund der geschwächten Immunlage reaktiviert, und an einer Erst-/Neuinfektion. Hierbei hatte der Patient entweder noch nie Kontakt zum Virus (CMV-IgG-negativer Empfänger/ CMV-IgG-positiver Spender) oder der Spender war mit einem anderen Virusstamm befallen (CMV-IgG-positiver Empfänger/ CMV-IgG-positiver Spender).

Das BK-Virus gehört zu der Gruppe der Polyomaviren. Der Durchseuchungstiter liegt bei über 75% in der Bevölkerung [70]. Das Virus persistiert im Gesunden in Urothelzellen ohne klinische Relevanz. Bei im immunkomprimierten Patienten kommt es mit einer Prävalenz von 40-90 % zu einer BKV-Virämie und führt in 1-10% zum Organbefall im Sinne einer interstitiellen Nephritis, die als BKV Nephropathie bezeichnet wird und letztlich zum Transplantatverlust führen kann [71]. Laut *Hirsch* [72] ist die kumulative immunsuppressive Last der Hauptrisikofaktor für eine BK Virus-Vermehrung. Eine Kombinationstherapie aus Tacrolimus und MMF scheint besonders mit einer erhöhten BKV-Replikation assoziiert zu sein [73].

Barri et al. [74] stellten außerdem in einer Studie dar, dass eine Cytomegalievirus-Infektion direkt oder auch indirekt zu einer BKV-Replikation führen kann. *Habicht et al.* [10] konnten zeigen, dass es bei AB0-inkompatibler Transplantation zu einer signifikanten Zunahme einer bioptisch nachgewiesenen BKV-Nephropathie (25%) kam, als im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv nach AB0-kompatiblen Transplantaten (8,5%). Hier scheint die intensivierete IS durch die Desensibilisierung verantwortlich zu sein.

2.9 Ziel der Arbeit

Da bislang kein einheitliches international anerkanntes Protokoll für eine Desensibilisierungstherapie vor einer geplanten Nierentransplantation bei hoch immunisierten und/oder AB0-inkompatiblen Empfängern existiert und die Studienlage hinsichtlich des Transplantatüberlebens, aufgrund der unterschiedlichen Protokolle, unklar ist bzw. kontrovers diskutiert wird, war es Gegenstand dieser Arbeit, das Transplantatüberleben nach Desensibilisierung im Rahmen einer AB0-inkompatiblen Lebendnierentransplantation (AB0i Gruppe) und/oder Lebendnierentransplantation bei Vorliegen von präformierten donor-spezifischen Antikörpern (DSA-Gruppe) im Transplantationszentrum München zu evaluieren. Empfänger mit nicht-spenderspezifischen HLA-Antikörper (geringes Risiko, Low-risk-Gruppe) und Empfänger ohne Anti-HLA-Antikörper (No-risk-Gruppe) dienten als Kontrollgruppen.

Hierbei sollten die konkreten Fragestellungen analysiert werden:

- Ist das kurzfristige Transplantatüberleben bzw. die Transplantatfunktion in unseren immunisierten Empfängern (AB0i- bzw. DSA-Patienten) nach Desensibilisierung vergleichbar zu nicht-immunisierten Empfängern?
- Sind präformierte donor-spezifische HLA-Antikörper bzw. das Vorliegen einer AB0-Inkompatibilität trotz Desensibilisierung ein relevanter immunologischer Risikofaktor für eine akute Abstoßung?
- Steigert die intensivierte Immunsuppression im Rahmen der Desensibilisierung das Risiko viraler Infektionen, insbesondere Infektionen mit CMV und/oder BKV?

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Material und Geräte

3.1.1 Verbrauchsartikel und mehrfach verwendbare Materialien

Folgende Verbrauchsartikel und mehrfach verwendbare Materialien wurden verwendet:

| <u>Artikel und Materialien:</u> | <u>Hersteller/Vertreiber:</u> |
|--|--|
| Diamed-Coombs-Anti-IgG ® und Diamed-ID-NaCl ® Systeme | DiaMed Diagnostika Deutschland |
| Diamed-cell-stab ® | DiaMed Diagnostika Deutschland |
| Glycosorb®-AB0-Säulen | Glycorex Transplantation AB, Lund, Schweden |
| HLA-A low resolution – SSP | Olerup SSP, Stockholm, Schweden |
| HLA-B low resolution – SSP | Olerup SSP, Stockholm, Schweden |
| HLA-DR low resolution – SSP | Olerup SSP, Stockholm, Schweden |
| HLA-DQ low resolution – SSP | Olerup SSP, Stockholm, Schweden |
| HLA-DP low resolution – SSP | Olerup SSP, Stockholm, Schweden |
| Aqua ad iniectabilia | Braun, Melsungen, Deutschland |
| Thermus aquaticus Polymerase (Taq) | Roche Diagnostics, Indianapolis |
| Ultra Pure DNA Typing Grade, 50x TAE Buffer | Gibco, Invitrogen, Oakland |

| | |
|-----------------------------------|--|
| Crystal Agarose | Biozym Biotech Trading GmbH, Wien |
| Ethidiumbromid 0,5% | Roth, Karlsruhe, Deutschland |
| Testkit AbScreen HLA class I | Bio Rad Medical Diagnostics GmbH, Dreieich, Deutschland |
| Testkit AbScreen HLA class II | Bio Rad Medical Diagnostics GmbH, Dreieich, Deutschland |
| Waschpuffer AbScreen/AbIdent | Bio Rad Medical Diagnostics GmbH, Dreieich, Deutschland |
| Life-Codes Class I ID | Gen-Probe Inc., San Diego, California |
| Life-Codes Class II ID | Gen-Probe Inc., San Diego, California |
| Life-Codes Class I Screen | Gen-Probe Inc., San Diego, California |
| Life-Codes Class II Screen | Gen-Probe Inc., San Diego, California |
| Pipetman | Gilson Inc., Middleton, Wisconsin |
| Biosphere Quality Tips 200µl type | Sarstedt, Nümbrecht-Rommelsdorf, Deutschland |
| Eppendorf Multipette | Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland |
| HTS Multiscreen Filter plates | Millipore, Billerica, Massachusetts |
| Integra Creatinine Jaffé Gen.2 | Roche Diagnostics, Indianapolis |

3.1.2 Geräte

Folgende Geräte und technische Hilfsmittel wurden verwendet:

| <u>Geräte:</u> | <u>Hersteller/Vertreiber:</u> |
|---------------------------|--|
| Plasmaseparator P2® | Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Deutschland |
| Thermocycler PE 9700 | Perkin Elmer, Waltham, Massachusetts |
| Bio Rad Gel Doc XR | Bio Rad, Hercules, California |
| IKA Vibrax VXR | IKA, Staufen, Deutschland |
| Life-Match Fluoroanalyzer | Tepnel, Lifecodes, Nijlen, Belgien |
| Millipore Absaugpumpe | Vacuubrand, Wertheim, Deutschland |
| Cobas Integra 800 | Roche Diagnostics, Indianapolis |

3.1.3 Software

Folgende Software wurde verwendet:

| <u>Software:</u> | <u>Hersteller/Vertreiber:</u> |
|--|--|
| SCORE – HLA Auswertungssoftware | Dr. W. Helmberg, Graz, Österreich |
| SigmaPlot® 11.0 (Exact Graphs and Data Analysis) | Systat Software inc. ,San Jose, U.S.A. |
| Microsoft Office 2010 | Microsoft Corp., Redmont, U.S.A |
| Microsoft Excel 2010 | Microsoft Corp., Redmont, U.S.A |

3.2 Methoden und Datenerhebung

3.2.1 Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv umfasste insgesamt 86 Patienten, welche zwischen den Jahren 2007 und 2012 am Klinikum Großhadern eine Lebendnierentransplantation erhielten. Sechszwanzig Patienten erhielten eine AB0-inkompatible Lebendnierentransplantation (Gruppe AB0i, n=26), weitere 8 Patienten zeigten präoperativ Donor-spezifische Antikörper in der hochsensitiven LUMINEX-Analyse (Gruppe DSA, n=8). Eine dritte Gruppe bestand aus Patienten, bei denen nicht-Donor-spezifische Antikörper (nDSA) vor der Transplantation vorlagen (Gruppe Low-risk, n=20) und eine vierte nicht immunisierte Kontrollgruppe zeigte keinerlei Antikörper (Gruppe No-risk, n=32). Alle Patienten hatten eine negative konventionelle CDC Kreuzprobe vor Desensibilisierung und/oder Transplantation.

3.2.2 Datenquellen

Der Datenerhebungszeitraum begann im April 2007 und endete im Juli 2012. Es wurden demographische, prä-, peri- und post-operative Werte jedes Patienten gesammelt. Bezugsquelle hierfür stellten die Patientenakten mit Anmeldebogen zur Transplantation, Anamnesebogen, OP-Protokollen, Pathologiebefunden, Laborwerten und den Briefen der Station bzw. der Ambulanz dar, die mittels der Softwareprogramme „LAMP“, „PUMA Datenbank“ und „KAS“, retrospektiv eingesehen wurden. Die immunologischen Daten wurden alle im Labor für Immungenetik des Klinikums der Universität München - Großhadern bestimmt. Den Laborwerten liegen die Daten des Instituts für klinische Chemie des Klinikums der Universität München - Großhadern bzw. die Befunde auswärtiger Labore, zu denen die behandelnden niedergelassenen Nephrologen überweisen, zugrunde. Alle Pathologiebefunde wurden im Institut für Pathologie der LMU München generiert. Die postoperativen Daten wurden im Rahmen der regelmäßigen Vorstellungen in der Transplantationsambulanz erhoben bzw. bei den behandelnden niedergelassenen Nephrologen erfragt.

3.2.3 Parameter

Folgende Daten wurden erhoben:

1. **Spender-Variablen:** Alter, Geschlecht, Beziehung zum Empfänger, Cytomegalievirus (CMV), Epstein-Barr-Virus (EBV), Herpes simplex (HSV) und Varizella zoster Virus (VZV)
2. **Empfänger-Parameter:** Alter, Geschlecht, Grunderkrankung der Niereninsuffizienz, Dauer der Dialysetherapie, Re-Transplantationen, Humanes Leukozytenantigen (HLA) Mismatch, prozentuale Panelreaktivität (PRA) > 10%, Donor-Spezifische Antikörper (DSA), nicht-Donor-spezifische Antikörper (nDSA), Isoagglutinin IgG Antikörper Titer, CMV-, EBV-, HSV- und VZV-Status, Body Mass Index (BMI = kg/m²) und Anzahl der jeweiligen präoperativen Plasmapherese- (PE) bzw. Antigen-spezifischen Immunadsorptions (IA) Behandlungen
3. **Peri-Operative Faktoren:** Kalte Ischämiezeit (KIZ), Induktionstherapie, immunsuppressives Protokoll
4. **Post-Operative Faktoren:** verzögerte Transplantatfunktion (delayed graft function, DGF), die als Fortbestehen der Dialysepflicht innerhalb der ersten postoperativen Woche definiert wurde; Transplantat- und Patientenüberleben nach einem Jahr; Nierenfunktion nach einem Jahr gemessen anhand des Serum-Kreatinins (mg/dl) und der errechneten glomerulären Filtrationsrate (GFR) mittels der MDRD (Modifikation of Diet in Renal Disease, ml/min/1,73 m²) Formel, Funktionsverlust/gewinn innerhalb eines Jahres gemessen anhand der GFR-Slope ($GFR_{(\text{nach } 1 \text{ Monat})} - GFR_{(\text{nach } 1 \text{ Jahr})}$), Proteinurie (g Eiweiß/g Kreatinin im Spontanurin) nach 1 Jahr, Anzahl der Abstoßungen (gesichert in allen Fällen durch Transplantatbiopsien), Anzahl der viralen Infektionen (serologisch oder per Biopsie geprüft), Immunsuppressive Erhaltungstherapie.

3.3 Behandlungsstrategien

Alle Patienten im untersuchten Kollektiv erhielten im 1. Jahr eine 3-fach immunsuppressive Erhaltungstherapie bestehend aus einem Calcineurininhibitor Tacrolimus (Zielspiegel 1.-3.Monat: 8-12 ng/ml, 3.-6.Monat: 6-10 ng/ml, 6.-12.Monat: 4-8 ng/ml und ab dem 12.Monat: 4 ng/ml) oder Sandimmun Optoral (Zielspiegel: 1.-

3.Monat: 160-200 ng/ml, 3.-6.Monat: 120-160 ng/ml, 6.-12.Monat: 80-120 ng/ml und ab dem 12. Monat 40-80 ng/ml), Mycophenolat Mofetil (MMF; 1000 mg oral zweimal täglich) und dem Glucocorticoid Methylprednisolon (250 mg i.v. intraoperativ, 125 mg i.v. an Tag 1 post-op, 80 mg i.v. an Tag 2 post-op, 60 mg i.v. an Tag 3 post-op, 40 mg i.v. an Tag 4 post-op, danach 20 mg p.o. bis Tag 14 post-Tx., 15 mg p.o. bis Tag 28 post-Tx., 10 mg p.o. bis Tag 42 post-Tx., danach eine Erhaltungsdosis mit 5 mg/Tag p.o.). Je nach Gruppe erhielten die Patienten eine Desensibilisierung vor der Transplantation und/oder Induktion zur Transplantation nach folgendem Schema:

1. **AB0-Inkompatible-Gruppe:** Diese Gruppe wurde 4 Wochen vor der geplanten Transplantation mit dem Anti-CD20 monoklonalen Antikörper Rituximab (MabThera®; Roche Pharmaceuticals, Basel, Schweiz) in der Dosierung von 375 mg/m² vorbehandelt. Eine Antigen-spezifische Immunadsorption (Glycosorb ® A/B Säule, Glycorex Transplantation AB0) erfolgte beginnend 10-14 Tage vor der Transplantation, um die Isoagglutinin-Antikörper (anti-A und/oder anti-B) zu entfernen, bis der anti-Donor-Isoagglutinin IgG Titer ≤ 1:8 lag. Gleichzeitig mit der IA wurde mit einer 3-fach Erhaltungstherapie, bestehend aus Tacrolimus, MMF und Steroiden nach oben genanntem Schema begonnen. Ab dem Tag der Transplantation erhielten alle Patienten eine Induktion mit ATG (4mg/kg KG) über insgesamt fünf Tage.
2. **DSA:** Die Vorbehandlung der DSA-Gruppe glich der Desensibilisierungsstrategie der AB0i-Gruppe. 4 Wochen vor der geplanten Transplantation erhielten die Patienten Rituximab (375 mg/m²). Vor der Transplantation erfolgten routinemäßig 6 Plasmapheresebehandlung (Ersatz von 1 Plasmavolumen mit 5% Serum-Albumin präoperative bzw. postoperativ 5% Serumalbumin und 1 Liter Fresh Frozen Plasma). Eine 3 -fach Immunsuppression mit Tacrolimus, MMF und Steroiden (s.o.) wurde mit der Plasmapheresebehandlung begonnen. Ab dem Tag der Transplantation erhielten alle Patienten eine Induktion mit ATG (4mg/kg KG) über insgesamt fünf Tage.

3. **Low risk:** Aufgrund des immunologischen Status musste diese Gruppe nicht desensibilisiert werden, erhielt aber als Induktion entweder ATG (4mg/kg KG) über insgesamt fünf Tage oder den anti-IL2 Antikörper Basiliximab (Simulect®) mit 20 mg i.v. an Tag 0 und am vierten postoperativen Tag.
4. **No risk:** Diese Gruppe wurde weder desensibilisiert, noch erhielten die Patienten eine Induktion.

Alle Patienten mit einer CMV-Hoch-Risiko-Konstellation (Spender positiv, Empfänger negativ) bekamen eine dreimonatige postoperative Prophylaxe mit Valganciclovir (Virustatika). Außerdem bekam jeder Patient bis zum sechsten Monat nach der durchgeführten Operation eine orale PcP-Prophylaxe mit Trimethoprim/Sulphamethoxazole 160 mg/ 800 mg p.o. dreimal wöchentlich.

3.3.1 Plasmapherese

Prinzip der Plasmapherese: Im Rahmen der Plasmapheresebehandlung (griech.: apharesis = Abtrennung) erfolgte eine Trennung (Separation) der plasmatischen von den zellulären Bestandteilen des Blutes zur Entfernung bzw. Reduktion plasmatischer Bestandteile. Die Separation des Plasmas kann durch eine grobporige spezifische Filtermembran (Plasmafilter) oder durch Zentrifugationstechnik erfolgen. Die Plasmaseparationsmembran ähnelt einer Dialyse- oder Hämofiltrationsmembran und wird als Hohlfaserkapillare in einem Kapillarplasmafilter mit zwei Blutanschlüssen und einem Filteranschluss angeordnet [78]. Bei der Zentrifugationstechnik ist eine kontinuierliche und fraktionierte Plasmaseparation möglich. Zudem werden höher molekulare Bestandteile besser separiert, als bei Filtertechnik (Porengröße von 0,2-0,5 µm). Die pro Behandlung ausgetauschte Plasmamenge beträgt ca. 50ml/kg Körpergewicht. Das Blut, aus einer punktierten peripheren Vene, wird mittels Infusionsschläuchen zur extrakorporalen Aufbereitung dem Plasmapheresegerät zugeleitet und in Abhängigkeit vom Gerätetyp mittels Zentrifuge oder Filter separiert. Das separierte Plasma wird verworfen und durch z.B. eine Humanalbuminlösung ersetzt. Die zelluläre Restfraktion (Thrombozyten, Leukozyten und Erythrozyten) wird unmittelbar nach Plasmaextraktion dem Patienten über eine zweite Punktionskanüle reinfundiert. Eine Antikoagulation, z.B. durch

Heparin-Bolusgabe, war vor Therapiebeginn zur Unterdrückung von Gerinnungsprozessen erforderlich.

3.3.2 Immunabsorption

Die Immunadsorption ist ein extrakorporales Therapieverfahren, das zur therapeutischen Entfernung von Autoantikörpern und Immunkomplexen vor AB0-inkompatiblen Transplantationen und bei antikörpervermittelten Transplantatabstoßungen eingesetzt wird. Aus einem kontinuierlichen Blutfluss wird hierfür Plasma abgetrennt und über einen (Antigenspezifischen-) Adsorber geleitet. Diese Adsorber beinhalten Stoffe, welche eine hohe Bindungseigenschaft zum jeweiligen zu separierenden Antikörper aufweisen. Das von Autoantikörpern und Immunkomplexen gereinigte Plasma wird, im Gegensatz zur Plasmapherese (siehe 2.3.1), dem Patienten wieder zurückgeführt. So werden selektiv Antikörper eliminiert und signifikante andere Blutbestandteile wie Gerinnungsfaktoren, Immunglobuline und Albumin nicht reduziert.

Die Blutgruppen-spezifischen Immunadsorptionsbehandlungen wurden mit Hilfe der Glycosorb®-AB0-Säulen durchgeführt. (Glycorex Transplantation AB, Lund, Schweden) Dabei sind die für das AB0-Blutgruppenantigen A bzw. B spezifischen terminalen Trisaccharide als Antigen-Liganden an einer Sepharose-Trägermatrix immobilisiert.

Für die IA-Behandlung wurde den Patienten Vollblut aus einem Dialysehunt oder einem Dialysekatheter entnommen. Das Blutplasma wurde mittels Plasmaseparator P2® (Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Deutschland) (siehe 2.3.1) abgetrennt und über die Glycosorb®-Säule geführt, die spezifisch und hocheffektiv Blutgruppen-Antikörper gegen die Spenderblutgruppe entfernten. Ein Blutfluss von 120 ml/min und ein Plasmafluss von 35-40 ml/min wurden während der Behandlung angestrebt. Präoperativ wurden 2,5 - 3,0 Plasmavolumen pro Sitzung mit kombinierter Citrat/Heparin Antikoagulation verarbeitet. Patienten, die nicht zwei Titterschritte pro Immunabsorption fallen, wurden mit einem Plasmavolumen von 3,0 behandelt. Anschließend wurde das Plasma wieder dem Patienten zurückgeführt. Je nach Ausgangstiter des Patienten und der Tendenz neue Antikörper gegen die Spenderblutgruppe zu bilden, war eine unterschiedliche Anzahl einer Immunadsorptionen vor Transplantation nötig um den Zieltiter von $\leq 1:8$ zu erreichen.

3.4 Diagnostik

3.4.1 Antikörperdiagnostik

In Deutschland ist der Umfang der immunologischen Verträglichkeitsdiagnostik vor Lebend- und/oder post-mortaler Nierentransplantationen über Eurotransplant und die Richtlinien zur Organtransplantation der Bundesärztekammer verbindlich festgelegt. Diese umfassen eine HLA Typisierung sowie eine Untersuchung auf transplantationsrelevante Antikörper vor der Nierentransplantation beim Organempfänger.

3.4.2 HLA-Typisierung (SSP-PCR)

Die molekulargenetische HLA-Typisierung des Empfängers und Spenders wurde gemäß den Eurotransplant-Richtlinien mittels der SSP-PCR (**s**equenz**s**pezifische **P**rimers- **P**olymerase **K**etten **R**eaktion, engl.: Polymerase Chain Reaction) folgendermaßen durchgeführt. Diese Methode beruht darauf, dass **s**equenz**s**pezifische **P**rimers (SSP) zur HLA-Typisierung komplementär zur Sequenz der DNS mit HLA-Genorten/Allelen des Patienten binden und in einer Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) ein Reaktionsprodukt erzeugen. Diese Reaktionsprodukte (Amplifikate) werden mittels einer Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und so nachgewiesen.

Der Ansatz für Olerup-SSP's wurde aus 15ng/µl der Empfänger DNA (10-30 ng/µl waren tolerierbar), 30µl des PCR-Mix-Olerup, 50µl destilliertem Wasser und 0,7µl der *Thermus aquaticus* Polymerase (Taq) zusammengesetzt und gut vermischt. 10µl dieser Mischung wurden in die einzelnen Tubes des Streifens gefüllt und im Thermocycler dem folgenden Programm unterzogen:

1 mal : bei 94°C für 2min

10 mal: bei 94°C für 10s und bei 65°C für 60s

20 mal: bei 94°C für 10s und bei 61°C für 50s und bei 72°C für 30s

min= Minuten, s= Sekunden

Zur Herstellung eines 2%igen Gels wurde 250ml Trisacetat-Ethylendiamintetraessigsäure (TAE) und 5g Agarose benötigt. Diese Lösung wurde

gut gemischt und zum Sieden gebracht. Nach Zugabe eines Topfens 0,5 prozentiges Ethidiumbromid, wurde die Masse in einen mit Gelkämmen versehenen Gelträger gegossen. Nach Aushärten des Gels, wurden die Gelkämme entfernt und der komplette Träger in ein TAE-Puffer-Bad gelegt. In die entstandenen Taschen wurde anschließend das Amplifikat pipettiert und die Elektroden angeschlossen. 30 Minuten lang erfolgte die Elektrophorese bei 180 Volt (V). Die Platte wurde mit dem Gerät Gel-Doc-XR fotografiert und die Auswertung fand mittels der SCORE-Auswertungssoftware statt.

3.4.3 Kreuzprobe

Die Kreuzprobe („cross-match“) ist ein medizinisches Testverfahren, das feststellt, ob sich das Gewebe des Spenderorgans mit dem des Empfängers verträgt. Dabei handelt es sich um einen von *Terasakii* entwickelten komplementabhängigen Mikrolymphozytotoxizitätstest (LCT), dessen Durchführung zwingend im Vorfeld jeder (Lebend-) Nierentransplantation vorgeschrieben ist. Für eine Kreuzprobe benötigt man Blutserum des Empfängers und Blut, Lymphknoten- oder Milzzellen des Spenders. Der Test ermittelt, ob sich im Blutserum des Patienten Antikörper gegen das gespendete Gewebe befinden (HLA-spezifische Antikörper).

Bei Inkubation mit zytotoxischen Antikörpern werden vitale Lymphozyten in Gegenwart von Komplement lysiert, wenn sie das korrespondierende HLA-Antigen an der Zelloberfläche besitzen. Der Nachweis der zytotoxischen Reaktion erfolgt im Färbeausschlußverfahren. Die lysierten Lymphozyten nehmen den Farbstoff auf (positive Reaktion), während die vitalen Zellen ungefärbt bleiben (negative Reaktion).

Durchführung des Zytotoxizitätstest:

Die Typisierungsproben bestanden aus einer Lymphozytensuspension, gewonnen aus peripherem Blut, Lymphknoten oder Milz, mit einer Vitalität von >95% und ohne zelluläre Verunreinigungen (z.B. Granulozyten, Erythrozyten, Thrombozyten). Die Typisierungskammern wurden mit 2-5 µl Paraffinöl pro Vertiefung einer Testkammer gefüllt und mit einer Mikroliterspritze 1 µl Testserum (kommerziell erhältlich und enthält humane, polyklonale HLA-Antiseren oder monoklonale Antikörper mit genau definierter Spezifität zur Bestimmung von HLA-Antigenen) unter das Öl eingespritzt. Für den Zytotoxizitätstest wurde die Zellkonzentration auf 2×10^6 Zellen/ml eingestellt und vorsichtig gemischt. In jede Vertiefung der Typisierungskammer wurde 1 µl

Lymphozytensuspension gegeben und bei Raumtemperatur für 30 Minuten inkubiert. Im Anschluss an die Inkubationszeit wurden 5 µl ausgetestetes Kaninchenkomplement mit Mehrfachdispenser reihenweise zugegeben und gemischt. Eine weitere Inkubation bei Raumtemperatur von 60 Minuten folgte. Für die anschließende Färbung wurde 2-5 µl 5% wässrige Eosin-Lösung in jede Vertiefung gegeben und gut gemischt. Nach 2 bis 3 Minuten wurden 5 µl Formalin (pH 7,2-7,4) zur Fixierung in jede Vertiefung gegeben. Die Testkammern wurden nun mit 50 x 75 mm Deckgläschen und unter Vermeidung von Blasenbildung abgedeckt. Nach frühestens 10 Minuten und Sedimentation der Zellen, war das Ablesen des Testergebnisses mit einem Umkehr-Phasenkontrast-Mikroskop (mit Vergrößerung Objektiv 10 x, Okular 10x oder 15x) möglich.

Bei der Ablesung unter dem Mikroskop wurden die vitalen Zellen (nicht angefärbt) von den toten Zellen (angefärbt durch Eosin) unterschieden. Der prozentuale Anteil der toten Zellen über jenen der Negativkontrolle hinaus wurde ermittelt und als Scorewert angegeben. In Deutschland wird ein Score 4 mit 21-40% toten Zellen als fraglich positiv und ein Score 6 mit 41-80% toten Zellen als positiv [79].

3.4.4 HLA-Antikörper (Luminex)

Mittels (Luminex-Assay-System) erfolgte die quantitative und qualitative Bestimmung der HLA-Antikörper präoperativ sowie postoperativ im Rahmen der Nachsorge.

Die Reagenzien (Life-Codes Class I ID, Life-Codes Class II ID, Life-Codes Class I Screen, Life-Codes Class II Screen) wurden auf Raumtemperatur gebracht. Für den Testansatz wurde die MultiSreen Filterplatte mit 200µl destilliertes Wasser aktiviert und ca.10min inkubiert. Die Rückstände wurden unter Vakuum abgesaugt. In jede Vertiefung wurden nun 40µl des Waschpuffers (One Lambda), 5µl der Beads (GenProbe LIFECODES LifeScreen Deluxe) und 12,5µl des Patientenserums bzw. der Kontrollgruppe pipettiert, geschwenkt und ca. 30min im Dunkeln inkubiert. Nach der Inkubation erfolgte die Zugabe von 100µl Waschpuffer in jede Vertiefung, diese wurde kurz ein gerüttelt und anschließend abgesaugt. Drei weitere Waschvorgänge mit je 250µl Waschpuffer und jeweils anschließendem Entfernen der Lösung folgten. Als nächstes wurden pro Vertiefung 45µl Waschpulver mit 5µl des Konjugats (=1:10 verdünntes Konjugat) zugegeben und abermals 30min im Dunkeln inkubiert. Nach der Inkubationszeit wurden nochmals 150µl Waschpuffer hinzu pipettiert, die Platte

leicht geschüttelt und anschließend in den Fluoroanalyzer eingesetzt. Die Fluoreszenzwerte der einzelnen Beads wurden so ermittelt und die Ergebnisse Software-unterstützt ausgewertet.

Im Gegensatz zum Luminex-Screening kann beim Luminex-Identifikationstest nicht nur eine Aussage darüber getroffen werden, ob ein Patientenserum Antikörper enthält, sondern auch, um welche es sich handelt. Dieses wird durch eine Glykoprotein-Beschichtung jedes einzelnen Beads erreicht, die jeweils von einer unterschiedlichen Person stammt. Somit entspricht jeder Bead einer Zelle und enthält jeweils beide HLA-Moleküle des Phänotyps (z.B. A3 A8 B14 B34 DR1 DR7).

Zusätzlich wurde der Luminex-Single-Antigen-Identifikationstest angewandt. Bei diesem Test sind die Beads gelabelt mit gereinigten HLA-Glykoproteinen jeweils eines Antigens der Klasse I bzw. der Klasse II und erkennen jeweils einen IgG-Antikörper der HLA-Klasse I bzw. der HLA-Klasse II. Die HLA-Merkmale des untersuchten Empfängers werden so mit den HLA-Merkmalen des Spenders verglichen.

Durchführung des Luminex-Single-Antigen-Identifikationstestes:

Der Testansatz erfolgte wie oben beschrieben beim Luminex-Screening- und Identifikationstest. Vor der weiteren Testdurchführung wurden die Serumproben bei 56°C für 30min hitzeinaktiviert. Für jede Probe im Single Antigen Klasse I bzw. Klasse II benötigte man jeweils eine Vertiefung, in die 40µl Beads-Puffer-Mix und 10µl Serum pipettiert wurden. Nach einer 30 minütigen Inkubationszeit im Dunkeln erfolgte die Zugabe von 100µl Waschpuffer und die anschließende Absaugung. Drei weitere Waschvorgänge mit je 200µl Waschpuffer und jeweils anschließendem Entfernen der Lösung folgten. Als nächstes wurden pro Vertiefung 45µl Waschlösung mit 5µl des Konjugats (=1:10 verdünntes Konjugat) zugegeben und abermals 30min im Dunkeln inkubiert. Nach der Inkubationszeit wurden nochmals 150µl Waschpuffer hinzu pipettiert, die Platte 5 min leicht geschüttelt und anschließend in den Fluoroanalyzer eingesetzt. Die Fluoreszenzwerte der einzelnen Beads wurden so ermittelt und die Ergebnisse Software-unterstützt ausgewertet.

3.4.5 Isoagglutinin-Antikörper

Die Bestimmung der Isoagglutinine-Antikörpertiter erfolge vor der Rituximabgabe, sowie direkt vor sowie im Anschluss jeder Immunadsorption. Methode der Wahl war die Gelkarten-Agglutinations-Technik, unter der Verwendung der Diamed-Coombs-Anti-IgG ® und Diamed-ID-NaCl ® Systeme (DiaMed Diagnostika Deutschland). Spender EDTA Vollblut Proben wurden im Diamed-cell-stab ® resuspendiert und so eine Endkonzentration von 0,8 - 1 % erreicht. Diese Zellen dienten als Zielzellen (Testerythrozyten). Je nach Blutgruppe des Empfängers wurden ein bis drei Diamed-Coombs-Anti-IgG ®/ID-NaCl ®-Karten verwendet und fortlaufend mit 1:1 (unverdünnt), 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 und 1:64 beschriftet. Gleich viel Volumen an Spender Erythrozyten und an linear verdünntem Empfänger Serum wurde in der Diamed-Coombs-Anti-IgG ®-Karte bei 37°C und in der Diamed-ID-NaCl ®-Karte bei Raumtemperatur 15 Minuten lang inkubiert. Nach 10 minütiger Zentrifugation erfolgte die Beurteilung über einer Lichtplatte. Dabei entspricht der Isoagglutinititer des Patienten der niedrigsten Verdünnungsstufe, die noch zu einer schwach positiven Agglutination führte. Diese Verdünnungsstufe wurde als Isoagglutinititer des Patienten dokumentiert.

| ABO-Blutgruppe des Patienten | Gesuchte Isoagglutinine | Testerythrozyten |
|------------------------------|-------------------------|------------------|
| A | Anti-B | B |
| B | Anti-A1, -A2 | A1, A2 |
| 0 | Anti-A1, -A2, -B | A1, A2, B |

Tabelle 1: Schema zur Auswahl der zu verwendenden Testerythrozyten

3.4.6 BKV-Screening

Ein systematisches BKV Screening mittels einer Polymerase-Kettenreaktion (polymerase-chain-reaction, PCR) wurde 1 Monat nach der Transplantation (Ausgangsniveau) und danach Viertel-jährig für einen Untersuchungszeitraum von insgesamt zwei Jahren routinemäßig durchgeführt. Ferner erfolgte im Falle einer unerklärlichen Funktionsverschlechterung des Nierentransplantates die Abnahme einer BKV-PCR. Bei einer signifikanten BK Virämie ($>10^3$ Kopien/ml), geprüft in zwei separaten Kontrollen, erfolgte eine Biopsie der Transplantatniere. Bei Patienten mit BK Virämie und/oder BK Nephropathie ohne begleitende Rejektion wurde die

Immunsuppression nach gängiger Praxis reduziert, indem die MMF-Dosierung langsam halbiert wurde und der Blutspiegel von Tacrolimus auf 4-5 ng/ml gesenkt wurde. Im Falle einer BK Nephropathie mit begleitender akuter Abstoßung wurde MMF durch Leflunomid, ein Immunsuppressivum das als Basistherapeutikum (engl.: disease modifying antirheumatic drug, DMARD) in der Behandlung von rheumatischen Erkrankungen eingesetzt wird, ersetzt. Leflunomid wurde mit einer Initialdosis von 100 mg für drei Tage, gefolgt von einer Erhaltungsdosis von 20 mg verabreicht, um einen Blutspiegel von 50-100 µg/ml einzustellen. Bei einer Verschlechterung der Transplantationsfunktion trotz Umstellung der Immunsuppression, wurde unmittelbar eine erneute Biopsie durchgeführt, um schnellstmöglich eine akute Abstoßung zu identifizieren.

3.4.7 Biopsien

Bei einer Funktionsverschlechterung gemessen anhand eines Kreatininanstiegs und/oder einer signifikanten Proteinurie, erfolgte eine Stanzbiopsie des Transplantats. Die Abstoßungen wurden anhand der BANFF-Klassifikation der BANFF-Konferenz 2007 [80,81] im pathologischen Institut der LMU München bewertet.

Die Banff-Klassifikation

Die international akzeptierte und gängige histologische Einteilung einer Abstoßung nach Nierentransplantation stellt die Banff-Klassifikation dar. Diese wurde 1997 erstmalig erstellt und wird im Rahmen des alle 2 Jahre stattfindenden Banff-Meetings dem neuen Erkenntnis- und Forschungsstand bzw. neuer diagnostischer Methoden angepasst.

| Bezeichnung: | Befund: |
|---------------------|---|
| <i>Banff-1</i> | <u>Normal</u> |
| <i>Banff-2</i> | <u>Antikörper-vermittelte Veränderungen</u> (kann mit den Kategorien 3,4 ,5 und 6 zusammenfallen) Beinhaltet zirkulierende spenderspezifische Antikörper, C4d und die Pathologie |

| | |
|----------------|--|
| | <ul style="list-style-type: none"> - C4d Ablagerungen, ohne morphologische Veränderungen oder Abstoßungsreaktionen - C4d+ und Präsenz von zirkulierenden spenderspezifischen Antikörpern, keine Zeichen einer akuten oder chronischen Abstoßung - C4d+ und Präsenz von zirkulierenden spenderspezifischen Antikörpern, mit morphologischen Veränderungen einer akuten Abstoßung - C4d+ und Präsenz von zirkulierenden spenderspezifischen Antikörpern, mit morphologischen Veränderungen einer chronischen Abstoßung |
| Banff-3 | <p><u>Borderline-Veränderungen</u> (Suspekte akute T-Zell-vermittelte Reaktion) Diese Kategorie wird verwendet, wenn noch keine Intima- Arteritis präsent ist, aber eine Tubulitis mit schwacher interstitielle Infiltration oder eine interstitielle Infiltration mit schwacher Tubulitis vorliegt</p> |
| Banff-4 | <p><u>Akute T-Zell-vermittelte Reaktion vom Typ/Grad:</u></p> <p>IA- Fälle mit signifikanter interstitieller Infiltration und moderater Tubulitis</p> <p>IB- Fälle mit sigifikanter interstitieller Infiltration und schwerer Tubulitis</p> <p>IIA-Fälle mit milder- bis -moderater Intima-Arteritis</p> <p>IIB - Fälle mit schwerer Intima-Arteritis, >25% des luminalen Areals werden komprimiert</p> <p>III- Fälle mit transmuraler Arteritis und/oder arteriellen Fibrinoidablagerungen und Nekrose von glatten Muskelzellen mit lymphozytischer Inflammation</p> |
| Banff-5 | <p><u>Interstitiale Fibrose und tubuläre Atrophie</u> (beinhaltet eine nichtspezifische vaskuläre und glomeruläre Sklerose und den Grad der tubulo-interstitialen Veränderungen)</p> <p>I- Milde interstitiale Fibrose und tubuläre Atrophie (<25% der Korticalen-Fläche)</p> <p>II- Moderate interstitiale Fibrose und tubuläre Atrophie (26-50% der Korticalen-Fläche)</p> |

| | |
|----------------|---|
| | III- Schwere interstitiale Fibrose und tubuläre Atrophie (>50% der Korticalen-Fläche) |
| Banff-6 | Andere (Veränderungen, die nicht auf genannte akute/chronische Reaktionen beruhen) |

Tabelle 2: Vereinfachte Darstellung der Banff-Klassifikation in Bezug auf „Banff 97 Diagnostische Kriterien für Transplantatnieren-Biopsien“ und „Banff 07 Update“ (Meeting Report: Banff 07 Classification of Renal Allograft Pathology: Updates and Future Directions, American Journal of Transplantation 2008; 8; 753-760)

3.4.8 C4d

Bei allen Biopsien wurde eine routinemäßige C4d Färbung auf Paraffinschnitten durchgeführt um eine humorale Abstoßung zu diagnostizieren. Die C4d-positiv gefärbten Anteile in den peritubulären Kapillaren (PTC, peritubular capillaries) wurden wie folgt semiquantitativ klassifiziert: minimal (<10% der PTC), fokal (11-50% der PTC) und diffus (>50% der PTC). C4d ist ein Abbauprodukt des klassischen Komplementweges. Nach einer Antigen-Antikörper Bindung folgt eine Aktivierungskaskade sämtlicher Komplementproteine. Das Komplementprotein C4 wird in die Proteine C4a und C4b gespalten. C4b wird dann in C4d umgebaut. C4d kann sich kovalent an das Endothel, an dem die Komplementreaktion stattgefunden hat, binden. C4d dient in der Biopsie als Marker und diagnostisches Mittel der Antikörper induzierten Transplantatabstoßung (antibody mediated rejection = AMR =Banff 2) [82].

3.4.9 BKV-Nephropathie

Die Diagnostik der BK-Nephropathie (BKN) bezog sich auf histologische Merkmale, kombiniert mit dem immunhistologischen Nachweis von SV40.

3.5 Statistik

Für die Auswertungen der demographischen Daten wurde das Programm Microsoft® EXCEL 2010 verwendet. Die Ergebnisse wurden entweder als Mittelwert und Standardabweichung vom Mittelwert, oder in prozentualen Anteilen von der

Gesamtmenge der zum jeweiligen Parameter erfassten Daten angegeben. Eine weitere Auswertung erfolgte mit dem Programm SigmaPlot® 11.0 (Exact Graphs and Data Analysis, Systat Software inc., San Jose, U.S.A.). Hierbei wurde für die zu untersuchenden ordinalskalierten Parameter der sogenannte „Kruskal-Wallis-Test“ durchgeführt. Dies ist ein parameterfreier statistischer Rangsummentest für mehr als zwei Stichproben, mit dem im Rahmen einer Varianzanalyse getestet wird, ob unabhängige Stichproben (Gruppen) hinsichtlich einer ordinalskalierten Variable einer gemeinsamen Population entstammen [83,84]. Eine Normalverteilung der ordinalskalierten Variablen konnte mittels des Kolmogorov-Smirnov-Tests ausgeschlossen werden ($P < 0,05$). Im Falle einer Ablehnung der Nullhypothese mit $P < 0,05$ im Kruskal-Wallis-Test, waren weitere statistische Tests erforderlich, um eine Unterscheidung zwischen den einzelnen Gruppen vornehmen zu können. Als weiterführender statistischer Test wurde der Mann-Whitney-U-Test angewendet, mit welchem das Vorliegen eines signifikanten Unterschiedes zwischen je zwei verschiedenen und voneinander unabhängigen Gruppen geprüft werden konnte.

Die nominalskalierten Variablen untersuchten wir mittels qualitativen „Chi²-Test“, für den Vergleich von mehr als zwei Gruppen. Bei der Durchführung der statistischen Tests erfolgte zudem eine zweiseitige Signifikanzüberprüfung. Die Ergebnisse wurden bei P-Werten unter 0,05 als statistisch signifikant angenommen. Ziel war es, anhand dieser Berechnungen, sofern vorhanden, die jeweilige statistische Signifikanz der einzelnen Ergebnisse aufzuzeigen.

Alle Abbildungen wurden mittels SigmaPlot® oder Microsoft® EXCEL 2010 erstellt. Die Boxen der Boxplots entsprechen der 25.-75. Perzentile. Der Median wird durch eine horizontale Linie innerhalb dieser Boxen dargestellt. Mit Hilfe von T-Balken werden die kleinsten bzw. größten Werte angezeigt. Ausreißer, das sind Extremwerte die sich 1,5 bis 3 Boxenlängen außerhalb der Box befinden, sind als kleine Punkte dargestellt.

Des Weiteren wurden Balken- und Kreisdiagramme zur Veranschaulichung der nominalverteilten Daten verwendet.

Die Methodik erfolgte in Abstimmung mit dem Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie (IBE) München.

4 ERGEBNISSE

4.1 Patientencharakteristika

Es wurden insgesamt 86 erwachsene Patienten (>18 Lebensjahre) untersucht, darunter 8 Patienten mit DSA, 26 Patienten in der AB0i-Gruppe, 20 Patienten in der Low-Risk-Gruppe und 32 Patienten in der No-Risk-Gruppe. Die 4 Gruppen unterschieden sich nicht signifikant hinsichtlich des durchschnittliche Empfängeralters (AB0i-Gruppe 49.4 ± 15.3 , DSA-Gruppe 45.0 ± 5.6 , Low-Risk-Gruppe 44.3 ± 17 und in der No-Risk-Gruppe 46 ± 13 Jahre), der Verteilung der renalen Grunderkrankung, des Geschlechts (Anteil weibliche Empfänger AB0i-Gruppe 38,5%, DSA-Gruppe 37,5%, Low-Risk-Gruppe 30% und No-Risk-Gruppe 47%), der kalten Ischämiezeit sowie des BMI. Zum Zeitpunkt der Transplantation waren in der AB0i-Gruppe 27 %, in der Low-Risk 5% und in der No-Risk-Gruppe 31% der Patienten nicht dialysepflichtig und erhielten ihr Transplantat präemptiv. In der DSA Gruppe waren alle Patienten dialysepflichtig. Die durchschnittliche Dialysedauer war in der AB0i-Gruppe mit 587 ± 529 Tagen und in der DSA Gruppe mit 836 ± 635 Tagen länger, als in der No-Risk-Gruppe mit 512 ± 210 Tagen und in der Low-Risk-Gruppe mit 499 ± 381 Tagen. Wie zu erwarten war der Anteil der Re-transplantationen bzw. der immunisierten Patienten am höchsten in der DSA-Gruppe. Hier wurden 6 von 8 (75%) Patienten re-transplantiert und 2 von 8 (25%) zeigten PRA Werte > 10%. Auch in der Low-Risk-Gruppe waren 40% an Re-transplantationen und 2 Patienten mit einem PRA Wert > 10% zu verzeichnen, während in der AB0i-Gruppe 15,4% Re-transplantiert wurden, darunter zwei der drei Patienten mit erhöhten PRA-Werten. Im Vergleich hierzu war nur ein Patient in der No-Risk-Gruppe bereits vortransplantiert und kein Patient dieser Gruppe immunisiert. Interessanterweise lag der Anteil der weiblichen Spender in der DSA-Gruppe im Vergleich zu den 3 anderen Gruppen deutlich niedriger und es war die einzige Gruppe in der mehr Männer als Frauen gespendet haben. Siehe Tabelle 3.

| | AB0i | DSA | Low Risk | No Risk |
|-------------------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|
| Anzahl (n) | 26 | 8 | 20 | 32 |
| Alter Empfänger (Jahre) | 49.4 ± 15.3 | 45.0 ± 5.6 | 44.3 ± 17 | 46 ± 13 |

| | | | | |
|---------------------------------------|------------------|----------------|----------------|------------------|
| Geschlecht Empfänger (weiblich) | 10/26 (38.5%) | 3/8 (37.5%) | 6/20 (30%) | 15/32 (47%) |
| BMI Empfänger (kg/m ²) | 24.1 ± 4.3 | 24.9 ± 5.1 | 23.1 ± 3.9 | 25 ± 4 |
| renale Grunderkrankung | | | | |
| Diabetes | 2 | 1 | 0 | 3 |
| Hypertonie | 1 | 0 | 2 | 4 |
| Glomerulonephritis | 8 | 7 | 14 | 20 |
| ADPKD | 4 | 0 | 2 | 2 |
| Amyloidose | 2 | 0 | 0 | 0 |
| Nephrosklerose | 3 | 0 | 0 | 2 |
| Schrumpfnieren | 4 | 0 | 0 | 1 |
| Dysplasie | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Genetische Genese | 1 | 0 | 1 | 1 |
| Unklare Genese | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Dialysedauer vor Tx (Tage) | 587 ± 529 | 836 ± 635 | 499 ± 381 | 512 ± 210 |
| Präemptive Tx | 7/26 (27%) | 0/8 | 1/20 (5%) | 10/32 (31%) |
| Re-Transplantation | 4/26 (15.4%) | 6/8 (75%) | 8/20 (40%) | 1/32 (3%) |
| PRA > 10% | 3/26 (11.5%) | 8/8 (100%) | 12/20 (60%) | 0/37 (0%) |
| HLA Mismatch (n) | 1/26 (3.8%) | 8/8 (100%) | 0/20 | 0/32 |
| Mismatch (MM) | 3.5 ± 1.6 | 3.0 ± 1.5 | 3.1 ± 1.6 | 3.1 ± 1.4 |
| Alter Spender (Jahre) | 57.7 ± 10.5 | 53.1 ± 9.5 | 54.6 ± 10.7 | 57 ± 11 |
| Geschlecht Spender (weiblich) | 18/26 (69.2%) | 3/8 (37.5%) | 16/20 (80%) | 20/32 (61.5%) |
| Kalte Ischämiezeit (Stunden) | 1 ± 0,0 | 1 ± 0,0 | 1 ± 0,1 | 1 ± 0,0 |

Tabelle 3: Patientencharakteristika von AB0i-, DSA-, Low-Risk und No-Risk-Gruppe

4.2 Vorbehandlung und Antikörper-Titer

4.2.1 Anzahl der Immunabsorptionen in der AB0i-Gruppe

In der AB0i-Gruppe lag der durchschnittliche Isoagglutinin-Titer präoperativ im Median bei 1:512. Der höchste gemessene Titer lag bei 1:1024 und der niedrigste bei

1:2. Um den Zieltiter von $\leq 1:8$ zu erreichen waren im Durchschnitt 4 ± 3 Immunadsorptionsbehandlungen vor Transplantation von Nöten. Von den 26 ABOi-transplantierten Patienten mussten sich lediglich fünf Personen (19,2%) postoperativ weiteren IA-Behandlungen unterziehen, da der Isoagglutinin-Titer in der ersten Woche auf $> 1:8$ bzw. in der zweiten Woche auf $> 1:16$ anstieg. Diese fünf Personen wiesen auch schon im Vorfeld hohe präoperative Titer auf (1:128, 1:1024, 1:1024, 1:512 und 1:64). Zwei der fünf Patienten erhielten 2-4 Plasmapherese- und 3 der fünf Patienten 1-3 Immunadsorptionstherapien postoperativ.

4.2.2 Anzahl der Plasmapheresen in der DSA-Gruppe

In der DSA-Gruppe wurde für die Transplantation ein HLA-Klasse I MFI Wert von ≤ 3000 angestrebt. Der präoperative HLA-Klasse I MFI Wert lag durchschnittlich bei 1000 ± 1927 und der präoperative HLA-Klasse II MFI Wert bei 9100 ± 7088 . Standardmäßig erhielten die Patienten 6 Plasmapherese-Behandlungen prä-NTx. Bei zwei der acht Patienten (25%) wurde die Anzahl der Behandlungen aufgrund hoher MFI-Werte auf sieben erhöht. Dadurch konnte der HLA-Klasse I MFI Wert auf 200 ± 385 und der HLA-Klasse II MFI auf 6800 ± 7484 gesenkt werden. Ein Patient mit sehr hohen Ausgangstitern, erhielt postoperativ zwei weitere Plasmapherese-Behandlungen.

| vor Tx | MFI I < 1000 | MFI I ≥ 1000 | MFI II < 1000 | MFI II ≥ 1000 |
|--------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------------|
| | 7/8 (87.5%) | 1/8 (12.5%) | 3/8 (37.5%) | 5/8 (62.5%) |

Tabelle 4: Single-Antigen (SA) MFI- Werte nach den durchgeführten Plasmapherese-Behandlungen vor der geplanten Tx

4.3 Patienten-/Transplantat-Überleben

Das Patientenüberleben betrug in allen vier Gruppen nach 12 Monaten jeweils 100%. Auch kam es 12 Monate postoperativ in der ABOi-, DSA- und No-Risk-Gruppe zu keinem Transplantationsverlust während es bei einem Patienten der Low-Risk-Gruppe (5%) innerhalb des ersten Jahres aufgrund der Rekurrenz seiner Grunderkrankung (FSGS) zum Transplantatverlust kam.

4.4 Nierenfunktion

4.4.1 Initiale Funktionsaufnahme

Die Nierenfunktion setzte in 94,5% der untersuchten Patienten initial ein. Eine verzögerte Funktionsaufnahme, d.h. eine fortbestehende Dialysepflicht innerhalb der ersten postoperativen Woche, zeigten vier Patienten der ABOi-Gruppe (15,4%) und ein Patient der Low-Risk-Gruppe (5%).

4.4.2 Nierenfunktion im Verlauf

Die Nierenfunktion gemessen anhand der Serum-Kreatinin-Werte unterschied sich nach 10 Tagen, 1, 4, 6 und 12 Monaten (Abb. 6 links) nach der Transplantation nicht signifikant zwischen den 4 Gruppen. 1 Jahr nach Transplantation lag das Serum-Kreatinin in der ABOi-Gruppe bei 1.63 ± 0.5 mg/dl, in der DSA-Gruppe bei 1.78 ± 0.6 mg/dl, in der Low-Risk-Gruppe bei $1,64 \pm 0.5$ mg/dl und in der No-Risk-Gruppe bei 1.6 ± 0.3 mg/dl. ($P = 0,95$) (Abb.5 links)

Auch die GFR nach 1 Jahr, die mittels MDRD Formel berechnet wurde, war zwischen den 4 Gruppen vergleichbar und betrug 48.05 ± 18 ml/min in der ABOi-, 42.6 ± 10 ml/min in der DSA-, 48.5 ± 13 ml/min in der Low-Risk- und 45.4 ± 10 ml/min in der No-Risk-Gruppe. ($P = 0,786$)

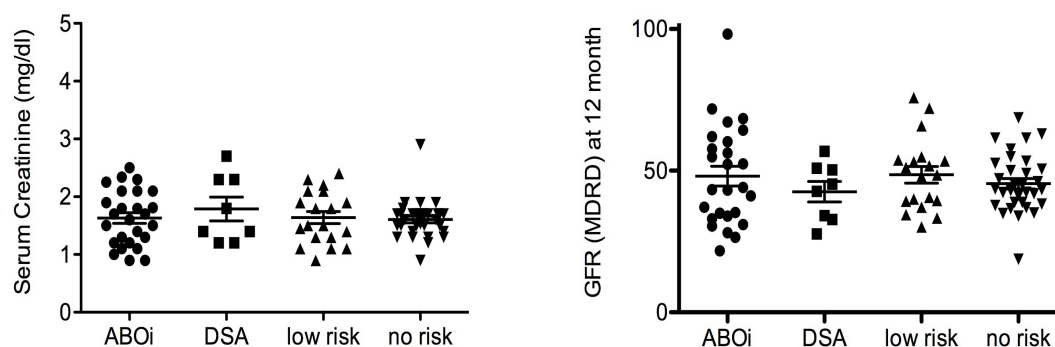


Abb.5, links: Serum-Kreatininwerte 12 Monate postoperativ (ohne Patient mit Rekurrenz of Disease)

Abb. 5, rechts: Berechnete GFR nach 12 Monaten postoperativ (ohne Patient mit Rekurrenz of Disease)

4.4.3 Proteinurie

Als Marker einer chronischen glomerulären Schädigung erfolgte die Bestimmung der Protein (mg) /Kreatinin (g) Verhältnisses im Spontanurin nach 12 Monaten. Eine signifikante Proteinurie ist definiert als > 500 mg Protein/ g Kreatinin. Im Durchschnitt lag das Protein/Kreatinin-Verhältniss bei 68.8 ± 326 mg Protein/g Kreatinin in der AB0i-, bei 428 ± 1027 mg Protein/ g Kreatinin in der DSA-, bei 121.5 ± 253 mg Protein/ g Kreatinin in der Low-Risk- und bei 63.3 ± 116 mg Protein/ g Kreatinin in der No-Risk-Gruppe. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied innerhalb der Gruppen ($P = 0,935$).

Ein Patient in der DSA-Gruppe (12,5%) und zwei Patienten in der Low-Risk-Gruppe (10%) entwickelten allerdings eine signifikante Proteinurie mit 2950 mg Protein/ g Kreatinin, 530 mg Protein/ g Kreatinin und 1010 mg Protein/ g Kreatinin. Ursächlich hierfür waren in der Low-Risk- Gruppe bei einem der Patienten eine bioptisch gesicherte chronische Schädigung Banff 5 II b und bei dem zweiten Patienten, wie bereits erwähnt, eine Rekurrenz der Grunderkrankung (FSGS), die bereits sieben Tage nach Transplantation evident wurde und letztlich zum Transplantatverlust führte. Bei dem Patienten in der DSA-Gruppe wurde eine BKVN und eine humorale Abstoßung diagnostiziert.

4.4.4 Gewinn/Verlust der Nierenfunktion innerhalb des ersten Jahres

Um eine Steigerung bzw. Verschlechterung der Nierenfunktion im Verlauf anschaulich darstellen zu können erfolgte die Berechnung der GFR-Slope. Hierzu wurde die Differenz zwischen der GFR nach 1 Monat und nach 12 Monaten post-Tx ($GFR_{(\text{nach } 1 \text{ Monat})} - GFR_{(\text{nach } 1 \text{ Jahr})}$) ermittelt. Hierbei zeigte sich, dass sich die Nierenfunktion sowohl in der AB0i-Gruppe (GFR-Gewinn: $+ 6.1 \pm 11.8$ ml/min) als auch in der No-Risk-Gruppe (GFR-Gewinn: $+ 4.5 \pm 12.5$ ml/min) im Verlauf des ersten Jahres verbesserte, die Nierenfunktion in der Low-Risk-Gruppe relativ stabil blieb (GFR-Verlust: $+2.1 \pm 12,5$ ml/min), während es in der DSA-Gruppe mit einer durchschnittlichen GFR-Abnahme von $-3.1 \pm 7,5$ ml/min zu einem Funktionsverlust kam der im Vergleich zu den Kontrollgruppen Low-Risk und No-Risk statistisch signifikant war ($P=0,023$). Siehe Abb. 6.

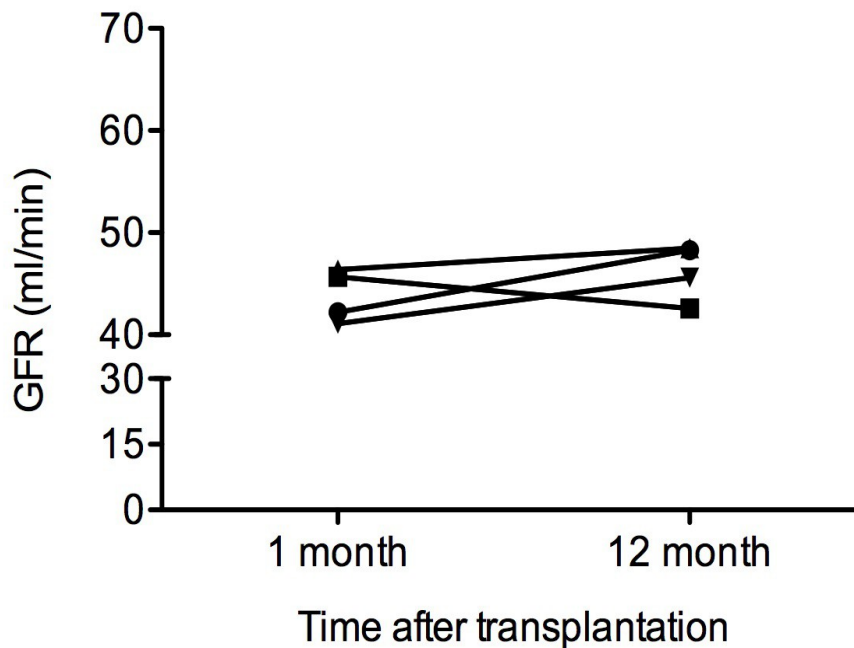


Abb. 6: GFR-Verlauf innerhalb von 12 Monaten

4.5 Abstoßungen

In der DSA-Gruppe wurde 75% (6/8) der Patienten einmal oder mehrfach biopsiert. Im Vergleich hierzu wurden 61,5% (16/26) der Patienten der ABOi-, 60% (12/20) der Patienten Low-Risk- und 43,8% (14/32) der Patienten der No-Risk-Gruppe einmal bzw. mehrfach biopsiert. Bei den Patienten der DSA-Gruppe kam es mit 37,5% (3/8) im Vergleich zu den Patienten in der ABOi-Gruppe, Low-Risk-Gruppe und No-Risk-Gruppe mit 23% (6/26), 15% (3/20) und 22% (7/32) häufiger zu einer biopsisch gesicherten Abstoßung ($P=0,641$).

Es zeigte sich, dass nicht nur die Quantität der Abstoßungen in den Kontrollpatienten geringer war, sondern auch der Schweregrad gemessen anhand des Banff Scores. So kam es in der No-Risk- und Low-Risk- Gruppe lediglich zu Borderline-Veränderungen bzw. einer leichten zellulären Abstoßung Banff 4 I a während die Patienten in der DSA-Gruppe auch mittelgradige zelluläre Abstoßungen Banff 4 II b aufwiesen. Ferner entwickelten 2 Patienten in der DSA-Gruppe und 2 Patienten in der ABOi-Gruppe eine humorale Abstoßung im Gegensatz zu keinem Patienten in Low-Risk- und No-Risk-Gruppe (siehe Tabelle 5).

| | ABOi | DSA | Low Risk | No Risk |
|---|-----------------|--------------|-----------------|----------------|
| Banff 3 (Borderline) | 3/26 (11.5%) | 0 | 2/20 (10%) | 6/32 (19%) |
| Banff 4 I a | 1/26 (3.8%) | 0 | 1/20 (5%) | 1/32 (3%) |
| Banff 4 I b | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Banff 4 II a | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Banff 4 II b | 0 | 1/8 (13%) | 0 | 0 |
| Humorale Abstoßung (C4d⁺) | 2/26 (7.7%) | 2/8 (25%) | 0 | 0 |

Tabelle 5 : Klassifikation der akuten Abstoßungen innerhalb der Gruppen

4.6 Verlauf der DSA- bzw. nDSA-Titer postoperativ

Um den Verlauf der prä-existierenden Donorspezifischen (DSA)- und/oder non-Donorspezifischen (nDSA) Antikörper nach Transplantation zu monitorieren bzw. um möglichst frühzeitig ein Entstehen von deNovo DSA und/oder non-DSA zu entdecken und rechtzeitig therapeutische Schritte einleiten zu können, erfolgte ein regelmäßiges postoperatives HLA-Antikörperscreening. Hier lagen nach 12 Monaten von 24 der 26 Patienten (92,3%) der ABOi-, allen 8 Patienten (100%) der DSA-, 17 von 20 Patienten (85%) der Low-Risk- und 25 von 32 (78,1%) Patienten der No-Risk-Gruppe Untersuchungsergebnisse an mindestens 2 Zeitpunkten nach Tx vor.

4.6.1 Persistenz der präexistierenden HLA-AK

Es zeigte sich, dass bei 75% (6/8) der Patienten in der DSA Gruppe nach der Transplantation die präexistierenden DSA (MFI \geq 3000) trotz der Vorbehandlung noch nachweisbar waren, inklusive alle 3 Patienten der DSA Gruppe, die eine akute Abstoßung entwickelt hatten. Interessanterweise konnte bei einem der Patienten, der im Verlauf eine humorale Abstoßung entwickelte, die MFI-Titer der anti-HLA Antikörper gegen Klasse I und Klasse II durch die Plasmapherese vor Transplantation nicht unter unseren cut-off von 3000 gesenkt werden (Prä-Tx MFI Klasse I: 1000, Klasse II 6000). Während bei den Patienten, die eine zelluläre Abstoßung entwickelten nur der Titer der anti-HLA Antikörper gegen Klasse II vor

Transplantation erhöht war (Prä-Tx MFI Klasse II 9500 ± 10606.6). Erwartungsgemäß hat der Patient mit der humoralen Abstoßung eine schlechtere Nierenfunktion (Kreatinin 2,7 mg/dl) 1 Jahr nach Transplantation im Vergleich zu den Patienten mit zellulärer Abstoßung (Kreatinin $1,8 \pm 0,71$ mg/dl) oder den Patienten ohne Abstoßung (Kreatinin $1,62 \pm 0,44$ mg/dl).

Bei 50% der Patienten waren die Antikörper in der Lage C1q-Komplement zu binden. Allerdings scheinen C1q-DSA keine akute Abstoßung hervorzusagen (siehe Tabelle 6).

In der Low-Risk Gruppe persistierten in 5/17 Patienten die präexistierenden nDSA. Jeder der fünf Patienten wurde biopsiert. Bei keinem wurde allerdings eine Abstoßung diagnostiziert. Auch die Transplantatfunktion war trotz persistierender nDSA nach 1 Jahr nicht beeinträchtigt (Patienten mit präexistierenden nDSA Kreatinin $1,56 \pm 0,49$ mg/dl vs. Patienten ohne präexistierenden nDSA Kreatinin $1,7 \pm 0,44$ mg/dl Jahr).

In der No-Risk-Gruppe waren per Definition keine präexistierenden HLA-AK nachweisbar.

| Patient | DSA | C1q binding | B-cell XM | Luminex XM | MFI vor PE |
|---------|-----------|-------------|-----------|------------|------------|
| 1 | DQ2 | Nein | Negativ | Negativ | 5.000 |
| 2 | DR15 | Nein | Negativ | Positiv | 9.000 |
| 3 | A2 | Nein | Positiv | Positiv | 5.000 |
| 4 | DQ5 | Ja | Negativ | Negativ | 20.000 |
| 5 | B7 & DR16 | Ja | Positiv | Positiv | 9.000 |
| 6 | DQ6 | Nein | Positiv | Positiv | 1.800 |
| 7 | DR13 | Ja | Negativ | Positiv | 18.000 |
| 8 | DR3 | Ja | Positiv | Positiv | 12.000 |

| Patient | MFI bei Tx | Persistenz DSA nach Tx | Abstoßungen (Banff) | Kreatinin nach 12 Monaten (mg/dl) | Proteinurie nach 12 Monaten |
|---------|------------|------------------------|---------------------|-----------------------------------|-----------------------------|
| 1 | 2.000 | Ja | 4IIb (zellulär) | 1,4 | Nein |
| 2 | 200 | Ja | Nein | 1,2 | Nein |
| 3 | 600 | Nein | Nein | 1,4 | Nein |
| 4 | 17.000 | Ja | Nein | 2,3 | Nein |
| 5 | 6.000 | Ja | 2 (humoral) | 2,7 | Ja |
| 6 | 200 | Nein | Nein | 1,4 | Nein |
| 7 | 17.000 | Ja | 2 (humoral) | 2,3 | Nein |
| 8 | 10.000 | Ja | Nein | 1,8 | Nein |

Tab. 6: HLA-Antikörper-Screening nach Transplantation

4.6.2 Entwicklung von deNovo HLA-AK

Während in der DSA-Gruppe kein Patient deNovo DSA-AK entwickelte, kam es bei zwei Patienten der ABOi- (8.3%), drei Patienten der Low-Risk- (17.6%) und bei drei weiteren Patienten der No-Risk-Gruppe (12%) zu neu entwickelten DSA. Nur einer der acht Patienten, ein Patient aus der ABOi-Gruppe, entwickelte eine humorale Abstoßung (AMR). Die Nierenfunktion gemessen anhand des Kreatinin blieb innerhalb der 12 Monate relativ konstant (siehe Tabelle 7 und 8).

DeNovo nDSA konnten in zwei ABOi Empfängern (8,3%), zwei Patienten in der Low-Risk-Gruppe (11,8%) und vier Patienten der No-Risk-Gruppe (16%) nachgewiesen werden. Ein Patient aus der ABOi-Gruppe zeigte eine Abstoßung (Banff 3), zusätzlich ein Patient aus der Low-Risk-Gruppe (Banff 4 I a) und ein weiterer Patienten der No-Risk-Gruppe eine Banff 3 Borderline Läsion. Die Nierenfunktion war nach 1 Jahr jedoch nicht beeinträchtigt (siehe Tabelle 7 und 8).

| post-Tx Screening | ABOi (n=24) | DSA (n=8) | Low-Risk (n=17) | No-Risk (n=25) |
|-------------------|-------------|-----------|-----------------|----------------|
| deNovo DSA | 2/24 | 0/8 | 3/17 | 3/25 |

| | | | | |
|---------------------|------------------|--------------|-----------------|----------------|
| | (8.3%) | | (17.6%) | (12%) |
| deNovo nDSA | 2/24 (8.3%) | 0/8 | 2/17 (11.8%) | 4/25 (16%) |
| Prä-ex. DSA | 0/24 | 6/8 (75%) | 0/17 | 0/25 |
| Prä-ex. nDSA | 0/24 | 0/8 | 5/17 (29.4%) | 0/25 |
| Keine HLA-Ak | 20/24 (83.3%) | 2/8 (25%) | 7/17 (41.2%) | 18/25 (72%) |

Tabelle 7: Ergebnisse des HLA-Antikörper post-NTx Screenings

| post-Tx Screening | AB0i (n=24) | DSA (n=8) | Low-Risk (n=17) | No-Risk (n=25) | Gesamt |
|---------------------|-------------|------------|-----------------|----------------|-------------|
| deNovo DSA | 59.6 ± 6.6 | - | 45.3 ± 8.2 | 48.6 ± 8.9 | 51.2 ± 7.5 |
| deNovo nDSA | 37.5 ± 9.3 | - | 50.1 ± 2.3 | 55.6 ± 6.5 | 47.7 ± 9.3 |
| Prä-ex. DSA | - | 40.2 ± 9.9 | - | - | 40.2 ± 9.9 |
| Prä-ex. nDSA | - | - | 48.4 ± 16.9 | - | 48.4 ± 16.9 |
| Keine HLA-Ak | 48.5 ± 17.5 | 49.8 ± 10 | 48.5 ± 14.4 | 43.2 ± 10.7 | 47.5 ± 2.9 |

Tabelle 8: Nierenfunktion gemessen anhand der eGFR [ml/min] in Korrelation zum Auftreten von HLA-AK

4.7 Virale Infektionen

Um den Einfluss der intensivierten immunsuppressiven Therapie in der ABOi und DSA-Gruppe versus der Low-Risk- und No-Risk-Gruppe auf die Inzidenz von viralen Infekten nach Transplantation zu untersuchen erfolgte ein regelmäßiges BKV- und CMV-Screening post-Tx.

4.7.1 BKV

Insgesamt entwickelten 6 von 86 Patienten (6,9%) eine signifikante BKV-Virämie (zweimal bestätigte Viruslast > 1000 Geq/ml). Die BKV-Virämie wurde im Durchschnitt 192 ± 65 Tage nach Transplantation diagnostiziert Die durchschnittliche

Viruslast lag zum Zeitpunkt der Erstdiagnose bei einem Median von 165.000 Geq/ml. Alle Patienten mit einer signifikanten BKV-Virämie wurden biopsiert. Bei fünf der sechs Patienten (Inzidenz von 5.4% der Studienpopulation) konnte daraufhin eine BKV-Nephropathie (BKVN) bioptisch gesichert werden (Tabelle 9). Während kein Patient in der No-Risk- oder Low-Risk- Gruppe (0/52) eine BKV-Nephropathie entwickelte, wurde in 4 Patienten aus der ABOi-Gruppe (15,4%) und zwei Patienten aus der DSA-Gruppe (12,5%) eine BK-Virämie/ BKVN diagnostiziert (P=0,030). Interessanterweise hatten 2 von 6 (33%) Patienten mit BKVN im Vorfeld eine Abstoßung entwickelt und dementsprechend eine intensivierete immunsuppressive Therapie zur Abstoßungsbehandlung (Steroidstoß, Plasmapheresen, ATG=Anti-Thymozyten-Globulin) und ggf. IVIG) erhalten.

| Pat. | Gruppe | Abstoßung vor BKV (Banff) | Therapie bei Abstoßung | BKV (Tag nach Tx) | BKV (Kopien/ml) | BKVN | Intervention bei BKVN | Abstoßung nach Behandlung |
|------|--------|---------------------------|------------------------|-------------------|-----------------|------|-----------------------|---------------------------|
| 1 | ABOi | Nein | Nein | 265 | 590.000 | Ja | Red. IS | Nein |
| 2 | ABOi | Nein | Nein | 66 | 430.000 | Ja | Red. IS | Ja |
| 3 | ABOi | 2 (humoral) | Steroide, ATG, PE | 192 | 490.000 | Ja | Red. IS | Nein |
| 4 | ABOi | Nein | Nein | 174 | 350.000 | Ja | Red. IS | Ja |
| 5 | DSA | 2 (humoral) | Steroide, Rituximab | 202 | 770.000 | Ja | Wechsel | Nein |
| 6 | DSA | 2 (humoral) | Steroide, ATG, PE | 254 | 1.500 | Nein | keine | Nein |

Tabelle 9: BKV-Virämien und BKV-Nephropathien innerhalb der Gruppen (Reduktion der Immunsuppression = Red. IS)

Die Therapie der alleinigen BKV-Virämie ohne histologische Zeichen einer BKVN und der BKVN ohne histologische Zeichen einer Abstoßung bestand aus einer Reduktion der immunsuppressiven Therapie (MMF Dosis halbiert und Reduktion CNI Zielspiegel auf die Hälfte). Bei Diagnose einer BKVN bei gleichzeitiger Abstoßung

erfolgte die Umstellung von MMF auf Leflunomid (Zielspiegel 50 – 100 ng/ml). Bei allen vier Patienten der AB0i-Gruppe konnte eine BKV-Clearance innerhalb von 102 ± 230 Tagen nach Erstdiagnose einer BKV-Virämie erreicht werden, wohingegen in den Patienten aus der DSA-Gruppe die Viruslast lediglich gesenkt werden konnte, eine Clearance innerhalb unserer Nachbeobachtungszeit jedoch nicht erreicht wurde.

Die durchschnittliche Nierenfunktion 1 Jahr nach Transplantation bei den 5 Patienten mit BKVN war im Vergleich zu der Nierenfunktion der Patienten, die keine BKVN entwickelten, innerhalb der AB0i- und DSA-Gruppe deutlich schlechter (Pat mit BKVN Kreatinin 2,22 ± 0,67 mg/dl vs. Pat ohne BKVN Kreatinin 1,59 ± 0,44 mg/dl).

4.7.2 CMV

Die Risikokonstellation der jeweiligen Gruppen ist in Tabelle 10 gezeigt. Alle Hochrisikopatienten erhielten eine dreimonatige Prophylaxe mit Valganciclovir nach Transplantation.

| CMV-Konstellation | AB0i | DSA | Low-Risk | No-Risk |
|----------------------------|-------|-----|----------|---------|
| Hochrisiko | 30.8% | 25% | 5% | 18.9% |
| Intermediate Risiko | 46.1% | 50% | 60% | 48.7% |
| Niedrig Risiko | 23.1% | 25% | 35% | 32.4% |

Tabelle 10: CMV-Konstellationen. *Hochrisiko: Spender CMV IgG +/-Empfänger CMV IgG -; Intermediaterisiko: Spender CMV IgG +/-Empfänger CMV IgG + oder Spender CMV IgG -/Empfänger CMV IgG +; niedrig Risiko: Spender CMV IgG -/Empfänger CMV IgG -.*

Insgesamt entwickelten 16 der insgesamt 86 Patienten (19%) im Laufe des ersten postoperativen Jahres eine CMV-Virämie. Sechs der sechzehn Patienten mit CMV-Virämie (37,5%) hatten eine Hochrisiko-Konstellation (Spender CMV IgG +/-Empfänger CMV IgG -), 7/16 (43,75%) eine Intermediate-Risiko Konstellation (Spender CMV IgG+ / Empfänger CMV IgG + oder Spender CMV IgG- / Empfänger CMV IgG +) und 3/16 (18,75%) eine niedrig Risiko-Konstellation. Die höchste Anzahl an CMV-Virus-Kopien wurde bei einem Patienten aus der No-Risk-Gruppe mit Hochrisikoprofil nachgewiesen (1.300.000 Kopien/ml). Anscheinend stellt die intensiviert Immunsuppression kein Risiko dar, da in der DSA-Gruppe kein Patient

eine CMV-Virämie entwickelte, während eine ähnliche Rate an CMV-Virämien in der AB0i-Gruppe (6/26, 23%), in der Low-Risk-Gruppe (4/20, 20%) und in der No-Risk-Gruppe (6/32, 18.75%) zu verzeichnen war.

Drei von sechs Patienten (50%) aus der AB0i-Gruppe und vier von sechs Patienten (66,7%) aus der No-Risk-Gruppe entwickelten eine CMV-Erkrankung mit Organbeteiligung, darunter vor allem eine CMV-Colitis. Davon hatten 4/7 (57,1%) eine CMV-Hochrisiko-Konstellation und 3/7 (42,9%) eine Intermediate-CMV-Konstellation.

5 DISKUSSION

5.1 Diskussion der Ergebnisse

In dieser Studie präsentieren wir unsere Erfahrungen mit 26 AB0-inkompatiblen NTx-Empfängern und 8 NTx-Empfängern mit Donor-spezifischen-Antikörpern (DSA) nach Lebendnierentransplantation, die im Zeitraum zwischen Januar 2007 und Juli 2012 im Klinikum Großhadern transplantiert wurden. Als Vergleichsgruppen dienen uns zum einen NTx-Empfänger mit nicht-Donor-spezifischen-Antikörpern (nDSA, Low-Risk, n=20) und zum anderen NTx-Empfänger ohne Immunisierung (keine HLA-Antikörper prä-Tx, No-Risk, n=32), die im selben Zeitraum eine Lebendniere spende erhielten. Wir demonstrieren gute Kurzzeitergebnisse des Transplantatüberlebens und der Nierenfunktion 1 Jahr nach AB0i-Transplantation im Vergleich zu unseren Kontrollgruppen. Bei Patienten mit Luminex-detektierten DSA vor der Transplantation, stellten wir jedoch eine Zunahme der Abstoßungsreaktionen und einen geringen Rückgang der Nierenfunktion 12 Monate nach der Transplantation fest. Darüber hinaus haben wir eine erhöhte Rate von BK-Virus-Infektionen nach der intensivierten Desensibilisierung von AB0i und HLA-Empfängern festgestellt.

In etlichen Studien wurden vielversprechenden Ergebnisse mit Desensibilisierungsprotokollen, unter Einsatz von Immunglobulinen, Rituximab, Plasmapherese und Immunadsorption, von Lebendnierentransplantation bei Patienten mit präformierten anti-HLA-Antikörpern und/oder AB0-Inkompatibilität veröffentlicht [85-89]. *Takahashi K. et al.* [114] berichtete kürzlich von einem ausgezeichneten Patienten (91%)- und Transplantatüberleben (83%) 9 Jahre nach AB0i-Nierentransplantation. Eingeschlossen in dieser Studie waren 1427 AB0-inkompatible Empfänger, mit einem Follow-up von mehr als 20 Jahren. Unsere Ergebnisse stimmen mit den Erfahrungen dieser Gruppen überein, da die Nierenfunktion der AB0-inkompatiblen Empfänger in unserem Kollektiv 10 Tage, 1, 4, 6 und 12 Monat nach Transplantation stabil und vergleichbar mit der Nierenfunktion der nicht-immunisierten, AB0-kompatiblen Kontroll-Gruppe war. Das 1-Jahres-Transplantatüberleben lag in unserer AB0i-Gruppe bei 100%, bei *Takahashi K. et al.* um die 96%.

Während nach Nierentransplantation bei Blutgruppenunverträglichkeit mittlerweile vergleichbare Ergebnisse wie nach einer blutgruppenkompatiblen Transplantation erzielt werden [56,90,113], wird der Einfluss präexistierender Anti-HLA-Antikörper auf das Transplantatüberleben, die nur mittels hochsensitiven Verfahren wie z.B. Luminex nachgewiesen werden, in der Literatur seit Jahren kontrovers diskutiert. Während bei *Michelon et al.* [96] Patienten mit präformierten DSA, die mittels Durchflusszytometrie nachgewiesen wurden, eine signifikant verminderte Nierenfunktion 1 Jahr nach Transplantation aufwiesen, demonstrierten *Süsal et al.* [97] 2002 in einem Patientenkollektiv von insgesamt 4000 Patienten vergleichbare 2-Jahres-Transplantatüberlebensraten (JÜR) bei Patienten mit präformierten Anti-HLA-Antikörpern (detektiert per ELISA) der Klassen I oder II (2-JÜR: $85 \pm 3\%$ bzw. $84 \pm 2\%$) im Vergleich zu Patienten ohne Anti-HLA-AK (2-JÜR: $84 \pm 1\%$). *Loupy A et al.* [38] konnte in einer Population von 1016 Nierentransplantatempfängern zeigen, dass donor-spezifische anti-HLA AK, die mittels LUMINEX nachgewiesen wurden, nur dann einen signifikanten Einfluss auf das Transplantatüberleben haben wenn sie Komplement (C1q) bindend waren. So hatten Empfänger mit C1q+DSA binnen 5 Jahren ein signifikant schlechteres Transplantatüberleben (54%), im Gegensatz zu Patienten mit C1q - DSA (93%) und Patienten ohne DSA (94%). Aufgrund des fraglichen Einfluss von donor-spezifischen anti-HLA AK, die nur im hochsensitiven Luminex Verfahren nachgewiesen werden können, haben deshalb viele Transplantationszentren Desensibilisierungstherapien entwickelt, die eine Nierentransplantation nach Lebendspende bei Patienten mit präformierten anti-HLA-Antikörpern ermöglichen.

In unserem Kollektiv kam es in der DSA-Gruppe im Vergleich zu den nicht immunisierten Patienten der ABOi- (23%), No-Risk-(22%) und den niedrig immunisierten Patienten in der Low-Risk-Gruppe (15%) mit 37,5% zu häufiger bioptisch gesicherten akuten Abstoßungen. Ferner zeigten sich gemessen am Banff-Score schwerere Abstoßungsformen. Während die Anzahl der T-Zell vermittelten Abstoßungen in den 4 Gruppen vergleichbar war (15% vs. 12,5% vs.15% vs. 22% in der ABOi, DSA, Low-Risk and No-Risk Gruppe), wurden Antikörper-vermittelte Abstoßungen (antibody-mediated rejection, AMR) nur in der DSA- und ABOi-Gruppe gefunden. Diese Ergebnisse sind vergleichbar mit den Ergebnissen von *Akalin et al.* [120], der 2008 bei 35 sensibilisierten nierentransplantierten Patienten, die

hochtitrige DSA der Klasse I und II vor Tx aufwiesen (mittels Luminex Technologie nachgewiesen), ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer frühen AMR und ein reduziertes Transplantatüberleben von 78% vs. 86%. vs. 100% nach durchschnittlich 18 Monaten Follow-up, trotz einer Desensibilisierung mit Thymoglobulin und IVIG, beobachtete. Bei *Billen et al.* [36] fiel die 5-Jahres-Transplantatüberlebensrate bei isoliert positivem HLA-Klasse-I-Luminex Crossmatch um ca. 30% niedriger aus. Auch *Amico et al.* [92,93] zeigte bei Patienten mit donor-spezifischen-HLA-AK eine 50% höhere Rate an Antikörper-vermittelten Abstoßungen und damit verbunden eine 20% geringere 5-Jahres-Transplantatüberlebensrate. *Bagnaso et al.*, berichtete in 129 Patienten, bei denen serielle Protokollbiopsien und klinisch indizierte Biopsien innerhalb des ersten Jahres nach HLA-inkompatibler-Nierentransplantation ausgewertet wurden, von einer Inzidenz von 66% klinischer und subklinischer Abstoßungen [116].

In unserer Studie wurden vor allem bei Patienten Abstoßungen diagnostiziert, in denen die prä-existenden donor-spezifischen anti-HLA AK trotz der Desensibilisierung persistierten und/oder im Verlauf nach der Transplantation über unserem cut-off von MFI > 3000 weiterhin bzw. erneut nachweisbar waren (6/8 Patienten). So wiesen 50% der Patienten mit Persistenz der prä-existierenden HLA-AK (3/6) eine akute Abstoßung auf: Hierunter war der DSA-Patient der eine humorale Abstoßung entwickelte und vor Transplantation hohe MFI-Werte aufwies (MFI Klasse I:1000; Klasse II:6000). Entgegen der Daten von *Loupy A et al.* [38] war die C1q-Komplement Bindung der DSA in unserem Kollektiv nicht prädiktiv für das Auftreten einer Abstoßung und nicht mit einem schlechteren Tx-Überleben assoziiert. Dieser Effekt kann allerdings auch an der geringen Gruppengröße liegen. Die erhöhte Inzidenz der Abstoßungen in dieser Gruppe führte innerhalb des ersten Jahres zu keinem Transplantatverlust, doch zeigten die DSA Patienten eine schlechtere Nierenfunktion gemessen anhand des Serumkreatinins nach 1 Jahr im Vergleich zu den Kontrollgruppen (1.78 ± 0.6 mg/dl vs. 1.63 ± 0.5 mg/dl vs. 1.64 ± 0.5 mg/dl vs. 1.6 ± 0.3 mg/dl). (P=0,95)

Im Gegensatz zur Persistenz von DSA, scheint eine Persistenz von prä-existierenden nicht-donorspezifischen-HLA-AK das Risiko einer humoralen und/oder zellulären Abstoßung hingegen nicht zu erhöhen, da bei allen 5 von 17 Patienten der

Low-Risk-Gruppe mit persistierenden nDSA eine Biopsie erfolgt ist und bei keinem eine Abstoßung diagnostiziert wurde.

Ungefähr 10-25% der nierentransplantierten Patienten entwickeln im postoperativen Verlauf deNovo donor-spezifische anti-HLA Antikörper (*Mizutani et al. [98]*). In unserer Studie wurden bei insgesamt 8/86 (6,9%, 2 Patienten der ABOi-Gruppe, 3 Patienten der Low-Risk-Gruppe und bei 3 weiteren Patienten der No-Risk-Gruppe), im postoperativen Verlauf deNovo DSA-AK im regelmäßigen Screening innerhalb des 1. Jahres nachgewiesen. Entgegen der Arbeiten von Kobayashi et al. [99] und Ozawa et al. [100], die in ihren Studien eine NTx-Funktionseinschränkung und erhöhte Transplantatverlustrate nach deNovo-anti-HLA-DSA Bildung berichteten, war die Nierenfunktion, gemessen anhand der glomerulären Filtrationsrate (GFR) bei den Patienten mit deNovo DSA (8/86) in unserer Studie innerhalb der ersten 12 Monate relativ konstant (51.2 ± 7.5 ml/min), im Vergleich zu Patienten ohne anti-HLA-AK (47.5 ± 2.9 ml/min). Auch deNovo nDSA, die bei insgesamt 8 Patienten nachgewiesen wurden, schien kein Risikofaktor für eine schlechtere Nierenfunktion zu sein (GFR: 47.7 ± 9.3 ml/min). Diese Diskrepanz zwischen den Ergebnissen von Kobayashi et al. [99] und Ozawa et al. [100] und unseren könnte durch die unterschiedlich langen Nachbeobachtungszeiten und der unterschiedlichen Stichprobengröße bedingt sein. So untersuchte Kobayashi et al. 243 Seren in einem Zeitraum von 6 Monaten bis 21 Jahren nach Lebendnierentransplantation. Auch Ozawa et al. hatten eine Nachbeobachtungszeit von mehr als einem Jahr und untersuchten 266 Patienten. Wobei Terasaki et al. [101] und Lachmann et al. [102] zeigen konnten, eine deNovo-Anti-HLA-AK-Bildung bereits innerhalb des ersten Jahres einen schädigenden Einfluss auf das Transplantatüberleben hat. So zeigte Terasaki et al. dass es unter 244 Patienten mit deNovo DSA innerhalb des ersten Jahres zu 8,6% Transplantatverlusten kam (im Vergleich zu 3,0% Transplantatverluste bei 1421 Patienten ohne Antikörperbildung im selben Zeitraum).

Trotz der erhöhten Inzidenz an Abstoßungen war das kurzfristige Transplantatüberleben 1 Jahr nach Transplantation in der DSA Gruppe im Vergleich zur ABOi- und No-Risk Gruppe mit 100% unbeeinträchtigt. In der Low-Risk-Gruppe, kam es aufgrund der Rekurrenz der Grunderkrankung (FSGS), zu einem Transplantationsverlust. 4-20% aller Nierentransplantierten sind von einem Rezidiv

der renalen Grunderkrankung betroffen und bei 2-5 % kommt es letztlich zum Transplantatversagen. Wie *Briganti et al.* [94] feststellten, handelt es sich bei mehr als 75 % der Fälle, wie auch bei unserem Patienten, um das Rezidiv einer Glomerulonephritis.

In Übereinstimmung mit Studien von *Kücükköylü et al.*, *Morath et al.* und *Bentall et al.* [41,90,115], hatten die acht DSA-Patienten nach 12 Monaten eine reduzierte Nierenfunktion im Vergleich zu den Vergleichsgruppen gemessen anhand des Serum-Kreatinins (1.78 ± 0.6 mg/dl) und der errechneten GFR (42.6 ± 10 ml/min). Zudem kam es bei der DSA-Gruppe innerhalb des ersten Jahres zu einem signifikanten GFR-Verlust von errechneten -3.1 ± 7.5 ml/min ($P=0,023$). Die 26 blutgruppeninkompatiblen Patienten wiesen eine vergleichbare Transplantatfunktion (Serum Kreatinin von 1.63 ± 0.5 mg/dl, GFR von 48.05 ± 18 ml/dl) zu den Kontrollgruppen (Low-Risk-Gruppe: Serum Kreatinin von $1,64 \pm 0.5$ mg/dl, GFR von 48.5 ± 13 ml/min; No-Risk-Gruppe: Serum Kreatinin von 1.6 ± 0.3 mg/dl, GFR von 45.4 ± 10 ml/min) und eine verbesserte errechnete Transplantatfunktion innerhalb des ersten Jahres (GFR-Zugewinn: $+6.1 \pm 11.8$ ml/min) auf. Unsere günstigen 1-Jahres-AB0i-Ergebnisse unterstützen somit die hohe Effizienz des von Tydén et. al [57] entwickelten Protokolls und motivieren zur Fortführung von AB0-inkompatiblen Lebendnierentransplantationen nach eben diesem Schema.

Der Einfluss der intensivierten Immunsuppression, die im Rahmen der Desensibilisierungstherapien bei ABO-inkompatibler bzw. HLA-inkompatibler Transplantation notwendig ist, auf die Entstehung von Malignomen oder infektiologischen Erkrankungen ist letztlich ungeklärt. Das BK-Virus gehört in die Familie der Polyomaviren, es zeigt eine Seroprävalenz von 46%-94% in der Gesamtbevölkerung [122]. Das BK-Virus infiltriert Urothelzellen in den ableitenden unteren Harnwegen und Tubuluszellen in den Nieren. Bei einem immunkompetenten Gast kommt es zu keiner Ausbreitung des Virus, unter einer immunsuppressive Therapie kann es allerdings zu einer Reaktivierung des latenten BKV kommen, die eine interstitielle Nephritis (BKV-Nephropathie) verursachen kann. Unbehandelt kann eine BKV-Nephropathie in bis zu 50% der Fälle zu einem Transplantatverlust führen [67,70,123,124]. Die Prävalenz der BKV-Nephropathie nach NTx wird in der Literatur mit 1-10% angegeben, wobei diese wohl aufgrund der Verwendung von potenteren

Immunsuppressiva in den letzten Jahren angestiegen ist [91,95]. Hierbei scheint die Gesamtintensität der Immunsuppression und nicht ein einziges, spezifisches Immunsuppressivum das Risiko zu erhöhen [125].

In dieser Studie konnte bei 6 der insgesamt 86 in dieser Studie erfassten Patienten eine BK-Virusreplikation nachgewiesen werden, Diese entspricht einer Gesamtprävalenz von 6,9% und liegt somit im Bereich der Literaturangaben. Von den 6 Patienten entwickelten 5 eine BKV-Nephropathie (5,4% der Studienpopulation, 83,3% der Patienten mit BKV-Virämie). Auffallend hierbei ist, dass alle 5 Patienten mit BKVN zu den Patienten gehörten, die entweder aufgrund einer HLA-Inkompatibilität oder ABOi-Inkompatibilität eine intensiviertere Immunsuppression mittels Desensibilisierung erhalten hatten. Ferner hatten zwei der fünf Patienten vor diagnostizierter BKV-Virämie eine humorale Abstoßung entwickelt und die dementsprechende Abstoßungstherapie erhalten. Wir konnten bereits 2010 zeigen [106], dass es nach einer ABO-inkompatiblen Transplantation zu einem deutlichen Anstieg von BKV-Nephropathien (25%) in Vergleich zu ABO-kompatiblen Transplantationen (8,5%) gekommen ist, sodass die Desensibilisierungs- und/oder intensivierter Abstoßungstherapie mit einem erhöhten Risiko einer BKVN assoziiert zu sein scheint. Unsere Daten stehen ferner im Einklang mit den jüngsten Berichten, die ebenfalls eine erhöhte Inzidenz von BKVN (20-25%) nach Desensibilisierung bei ABOi- und HLA-inkompatiblen-Patienten bestätigen [117,118]. Erfreulicherweise kam es bei keinem der Patienten mit BKV-Nephropathie zu einem Transplantatverlust. Allerdings zeigten die Patienten mit BKVN eine schlechtere 1-Jahres Nierenfunktionen, gemessen am Kreatinin von 2.22 ± 0.67 mg/dl im Vergleich zu Patienten ohne BKVN (1.59 ± 0.44 mg/dl). Da eine spezifische antivirale Therapie bislang nicht existiert, lässt sich das BK-Virus nur durch Reduktion der Immunsuppression und/oder einer Umstellung der Immunsuppression auf Leflunomid kontrollieren. 3 der 5 Patienten mit hoher Viruslast und bioptisch gesicherter BKV-Nephropathie erhielten eine Umstellung der Therapie von MMF auf Leflunomid. Unter dieser Therapie wurde bei 2 der 3 Patienten eine Clearance des BK-Replikationsnachweises erreicht. Dies entspricht den Ergebnissen von bisherigen Studien, die sowohl in vivo als auch in vitro positive Resultate über den Einsatz von Leflunomid im Hinblick auf Virusreplikation und Transplantatversagen zeigten [107,108,109].

Die CMV-Infektion ist die häufigste virale Infektion nach Transplantation. Die Prävalenz einer CMV-Erkrankung liegt je nach Risikokonstellation und Autor bei 30-60% [110,119]. Das Cytomegalievirus gehört zur Familie der Herpesviren. Die Seroprävalenz in den Industriestaaten liegt durchschnittlich bei 40-70% [121]. Wie beim BKV kommt es fast ausschließlich bei immun-kompromittierten Patienten zu Krankheitssymptomen. Es wird dann zwischen einer „CMV-Infektion“ mit unspezifischen Symptomen (z.B. Müdigkeit, Abgeschlagenheit, Fieber, CMV-Virämie) und einer „CMV-Erkrankung“ mit Organbefall, wie z.B. CMV-Colitis, unterschieden. Entweder handelt es sich um eine Neuinfektion (CMV-Viren mit dem Transplantat übertragen) oder eine Reaktivierung bei Viruslatenz im Empfänger. Das größte Risiko einer Infektion oder Erkrankung besteht bei CMV-IgG negativen Empfängern eines CMV-IgG positiven Organs (Hochrisiko-Konstellation). Laut Europäischer Leitlinie für Infektiöse Komplikationen/CMV-Infektion (III.8.1) bekamen alle Patienten in unserer Studie mit einer CMV-Hoch-Risiko-Konstellation (Spender CMV IgG positiv, Empfänger CMV IgG negativ) eine dreimonatige postoperative Prophylaxe mit Valganciclovir (Virustatika). In unserer Studie entwickelten 16 von 86 Patienten (13,8%) eine CMV-Virämie und davon 7 Patienten eine CMV-Erkrankung. Die intensivierte Immunsuppression im Rahmen der Desensibilisierung stellte anscheinend kein Risiko dar, da in der DSA-Gruppe kein Patient eine CMV-Virämie/Erkrankung entwickelte. Im Zusammenhang mit CMV-Viren sind in der gegenwärtigen Literatur sowohl eine Co-Infektion mit dem BK-Virus und CMV-Virus als auch eine gegenseitige Begünstigung der Reaktivierung beschrieben (111,112), so dass das CMV-Virus möglicherweise einen Risikofaktor für eine BKV-Infektion darstellen kann. Für diesen möglichen Zusammenhang zeigte sich in unserer Studie keine signifikante Assoziation.

Zusammenfassend konnten wir in unserem Kollektiv bei Patienten mit Luminex-detektierten DSA vor der Transplantation eine Zunahme der Abstoßungsreaktionen, eine erhöhte Rate von BK-Virus-Infektionen und eine eingeschränkte Nierenfunktion 12 Monate nach der Transplantation zeigen, sodass sich die Frage stellt, ob sich eine Erweiterung des Spenderpools durch Transplantationen über HLA-Barrieren hinweg rechtfertigen lässt. Hier konnten Montgomery und Kollegen zeigen, dass Nierentransplantationen in immunisierten Empfängern nach Desensibilisierung trotz einer potentiell verminderten Transplantatfunktion sich günstig auf das

Patientenüberleben auswirken. So waren die Lebenserwartung bei desensibilisierten Lebendnierenempfängern, die ein HLAi-Organ erhielten, auffallend höher als bei Dialysepatienten, die auf ein HLA kompatibles Organ eines Leichenspenders gewartet hatten (80,6% vs. 49,1% nach 8 Jahren) [39]. Die Länge der Dialysedauer korreliert signifikant mit dem Risiko eines Transplantatversagens, so konnten *Meier-Kriesche et al.* zeigen, dass eine Wartezeit von 6 bis 12 Monaten eine Risikoerhöhung von 37% und eine Wartezeit zwischen 12 und 24 Monaten von 55% mit sich zog [105]. Auch *Wolfe et al.* und *Port et al.* konnten eindrücklich zeigen, dass das Mortalitätsrisiko von transplantierten Patienten vier Jahre nach Transplantation um die 70% geringer ist als bei gleichaltrigen Dialysepatienten [103,104].

5.2 Limitationen der Studie

Eine Limitation unserer Studie, ist die ungleiche Fallzahl in den Patientengruppen, daher muss abgesehen von der biologischen Varianz des Patientenkollektivs, auch die analytische Varianz berücksichtigt werden. Des Weiteren kann nicht davon ausgegangen werden, dass die hier untersuchten 86 Patienten einen repräsentativen Querschnitt aller nierentransplantierten Patienten darstellen, da abgesehen von der überschaubaren Kohorte, wir von regelmäßigen Nachkontrolluntersuchungen in unserer Transplantationsambulanz und/oder der Einsendung von Kontrollergebnissen der betreuenden Nephrologen abhängig waren. Die aussagekräftigsten Daten lieferten Patienten die engmaschig zu ihren Kontrollterminen erschienen und sich bei klinischer, laborchemischer und/oder sonographischer Verschlechterung der Transplantatfunktion einer Biopsie unterzogen. Auch waren wir von der Kooperation der Patienten bezüglich regelmäßiger Blutentnahmen zur Antikörpersuche abhängig, da positive Ergebnisse bezüglich neuer Antikörper in weiteren Screenings bestätigt und der Verlauf der Immunisierung verfolgt werden konnte. Jene Seren, deren Luminex-Screening auf HLA-AK positive Ergebnisse zeigte, wurden mittels Luminex-Ident weiter untersucht und konnten somit genau typisiert werden. Die Daten dieser Patientengruppe besitzen daher eine hohe Aussagekraft.

5.3 Diskussion der Methodik

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Auswertung klinisch erhobener Daten mit einer Fallzahl von $n=86$. Der Erhebungszeitraum umfasste die Jahre von 2007 bis 2012, wobei eine Nachbeobachtung bis ins Jahr 2013 stattfand. Somit haben wir für alle in diese Studie eingeschlossenen Patienten ein mindestens einjähriges Nachbeobachtungsintervall erreicht. Mit einer Gesamtzahl von 86 Patienten können wir bezüglich des Gesamtrisikos für das Patienten.- und Transplantatüberleben valide Aussagen treffen. Die statistische Auswertung der immunologisch unterschiedlichen Subgruppen (DSA-Gruppe, AB0i-Gruppe, Low-Risk-Gruppe und No-Risk-Gruppe) ist mit einer jeweiligen Fallzahl von 8, 26, 20 und 32 sicherlich kritischer anzusehen. Diese Fallzahlen reflektieren allerdings die Lebendnierentransplantationshäufigkeit in unserem Zentrum und spiegeln auch die im Verhältnis eher seltener durchgeführte Lebendnierentransplantation bei AB0-Inkompatibilität und die Transplantation bei Vorhandensein von spenderspezifischen Antikörpern wieder. Auch in der gegenwärtigen Literatur finden sich diesbezüglich oft große Schwankungen in den jeweiligen Fallzahlen. Die Datenerfassung erfolgte vornehmlich durch mich, eine nicht primär in der klinischen Versorgung der Patienten eingebundene Person, wodurch eine unvoreingenommene und emotional unbelastete Erfassung ermöglicht wurde.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Bei der momentanen Tendenz zu immer längeren Wartezeiten auf eine postmortale Nierenspende, kann eine Lebendnierentransplantation bei vorimmunisierten Patienten durch Donor-spezifische-Antikörper oder bei Patienten mit AB0-Inkompatibilität, mittels Desensibilisierung, den Organpool deutlich erhöhen. Wir konnten in dieser Auswertung gute Kurzzeitergebnisse bei unseren desensibilisierten Empfängern demonstrieren. Auch wenn die DSA-Patienten ein erhöhtes Risiko für Abstoßungen und eine schlechtere Nierenfunktion 12 Monate nach der Transplantation aufwiesen, sowie signifikant erhöhtes Risiko einer BKV-Nephropathie zeigten, erscheint die Strategie in Hinblick auf die berichtete Steigerung der Lebenserwartung im Vergleich zu einer verlängerten Wartezeit auf ein post mortales Organ gerechtfertigt.

7 LITERATURVERZEICHNIS

1. <http://www.dgfn.eu/presse/downloadbereich/daten-und-fakten-zur-nephrologie.html>, Seite der Deutschen Gesellschaft für Nephrologie (DGfN), Das Nierenportal
2. Siegund-Schultze: Nierenlebenspende bei HLA-Antikörpern des Empfängers: Transplantation nach Desensibilisierung erfolgreich, Dtsch Ärztebl 2011; 108(40): A-2097/B-1782/C-1762
3. http://www.eurotransplant.org/cms/mediaobject.php?file=year_2012.pdf, Eurotransplant, Yearly statistics PDF 2012, Seite 3
4. <http://www.dso.de/organspende-und-transplantation/thema-organspende.html>, Deutsche Stiftung Organtransplantation, Organspende und –transplantation
5. <http://www.auswandern.com/Organspende-in-Spanien.682.0.html>, Auswandern, Das Online-Magazin für alle, Organspende in Spanien
6. <http://www.dso.de/dso-pressemitteilungen/einzelansicht/article/organspendezahlen-stabilisieren-sich-auf-niedrigerem-niveau.html>, Deutsche Stiftung Organtransplantation (DSO), Organspendezahlen stabilisieren sich auf niedrigem Niveau vom 12.11.2013
7. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, et al.: Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. N Engl J Med 1999;341: 1725-1730
8. Dols LF, Kok NF, Ijzermans JN.: Live donor nephrectomy: a review of evidence for surgical techniques. Transpl Int 23: 121-130
9. Lamb KE, Lodhi S, Meier-Kriesche HU.: Long-term renal allograft survival in the United States: a critical reappraisal. Am J Transplant 11: 450-460
10. Habicht: Increase of infectious complications in AB0-incompatible kidney transplant recipients-a single centre experience, Nephrol Dial Transplant (2011) 26: 4124-4131
11. http://www.eurotransplant.org/cms/mediaobject.php?file=ar_2007.pdf, Seite 32, Graphik Lebendnierenspenden der Internetseite der Eurotransplant Organisation
12. http://www.eurotransplant.org/cms/mediaobject.php?file=ar_2011.pdf, Seite 49, Graphik Lebendnieren/Leberspende der Internetseite der Eurotransplant Organisation.
13. Dausset J (1958): Iso-leuko-antibodies, Acta Haematol 20 (1-4): 156-166
14. Opelz, G., Strength of HLA-A, HLA-B, and HLA-DR mismatches in relation to short- and long-term kidney graft survival. Collaborative Transplant Study. Transpl Int, 1992. 5 Suppl 1: p. S621-4
15. Opelz, G., Impact of HLA compatibility on survival of kidney transplants from unrelated live donors. Transplantation, 1997. 64(10): p. 1473-5.
16. Opelz, W. (1999): Factors influencing long-term graft loss. Transpl.Proc. 32, 647- 649
17. Opelz, W., Wuiak, T., Back, D., Mytilineos, J., Schwarz, W., Albrecht, G. (1994):Einfluß der HLA-Kompatibilität auf die Nierentransplantation. Infusionsther. Transfusionsmed. 21, 198-20278.
18. Opelz, W., Wuiak, T., Döhler, B. (1999): Is HLA-matching worth the effort? Transpl.Proc. 31, 717-720

19. Feucht, H.E., Opelz, G. (1996): The humoral immune response towards HLA class II determinants in renal transplantation. *Kidney Int.* 50, 1464
20. Faull RJ, Starr RJ, Russ GR: Vascular endothelial cell expression of adhesion molecules and HLA antigens in renal allografts, 1989, *Transplant Proc* 21: 316-317
21. <http://www.transfusionsmedizin.ukw.de/studenten/hauptvorlesung/hla/struktur/antikoerper.html>
22. Claas FH, Smeenk RJ, Schmidt R, van Steenbrugge GJ, Eernisse JG: Alloimmunization against the MHC antigens after platelet transfusions is due to contaminating leukocytes in the platelet suspension. *Exp Hematol* 9:84-89 (1981)
23. Schiffer CA: Prevention of alloimmunization against platelets. *Blood* 77:1-4 (1991) The trial to reduce alloimmunization to platelets study group: Leukocyte reduction and ultraviolet B irradiation of platelets to prevent alloimmunization and refractoriness to platelet transfusion. *N Engl J Med* 337:1861-1869 (1997)
24. Van Marwijk Kooy M, van Prooijen HC, Moes M, Bosma-Stants I, Akkerman JWN: The use of leukocyte-depleted platelet concentrates for the prevention of refractoriness and primary HLA alloimmunization: a prospective, randomized trial. *Blood* 77:201-205 (1991)
25. Klüter H, Bubel S, Kirchner H, Wilhelm D: Febrile and allergic transfusion reactions after transfusion of leukocyte-poor platelet preparations. *Transfusion* 39:1179-1184 (1999)
26. Moog R, Müller N: White cell reduction during platelet pheresis: a comparison of three blood cell separators. *Transfusion* 39:572-577 (1999);
27. The trial to reduce alloimmunization to platelets study group: Leukocyte reduction and ultraviolet B irradiation of platelets to prevent alloimmunization and refractoriness to platelet transfusion. *N Engl J Med* 337:1861-1869 (1997)
28. Terasaki, P.I., McClelland, J.D. (1964): Microdroplet assay of human cytotoxicity. *Nature* 204, 889-1000
29. Dragun D, Müller DN: Angiotensin II Type 1–Receptor Activating Antibodies in Renal-Allograft Rejection, *N Engl J Med* 2005;352:558-69
30. Weiß: Antikörpervermittelte Abstoßungsreaktionen – Donorspezifische Antikörper im Fokus der Transplantationsmedizin, *Dialyse aktuell* 2012; 16(07):424-426
31. Terasaki PI, McClelland JD: Microdroplet Assay of Human Serum Cytotoxins, 1964, *Nature* 204: 998-1000
32. Claas FHJ, Doxiadis IIN: Human leukocyte antigen antibody detection and kidney allocation within Eurotransplant, 2009, *Human Immunology* 70: 636-639
33. Kelsch R, Weber D : Immunologische Verträglichkeitsdiagnostik bei der Nierentransplantation: ein Update, *Transplantationsmedizin* 2010; 22.Jahrg.; S.111
34. Kobayashi, T., et al., Clinical value of HLA antibody monitoring after renal Transplantation. *Clin Transpl*, 2006: p.385-8
35. Mizutani, K., et al., The importance of anti-HLA-specific antibody strength in monitoring kidney transplant patients. *Am J Transplant*, 2007. 7(4):p. 1027-31
36. Billen EV, et al, Clinical relevance of Luminex donor-specific crossmatches: data from 165 renal transplants. *Tissue Antigens*. 2009 Sep;74(3):p. 205-12

37. Lachmann, N., et al., Anti-human leukocyte antigen and donor-specific antibodies detected by luminex posttransplant serve as biomarkers for chronic rejection of renal Allografts. *Transplantation*, 2009. 87 (10):p. 1505-13
38. Loupy A, Lefaucheur C, Vernerey D et al. Complement-binding anti-HLA antibodies and kidney-allograft survival. *N Engl J Med* 2013 Sep 26;369(13):1215-26
39. Montgomery RA, Lonze BE, King KE et al. Desensitization in HLA-incompatible kidney recipients and survival. *N Engl J Med* 2011; 365: 318-326
40. Susal, C., et al., No association of kidney graft loss with human leukocyte antigen antibodies detected exclusively by sensitive Luminex single-antigen testing: a Collaborative Transplant Study report. *Transplantation*, 2011. 91(8): p. 883-7.
41. S. Kücüköylü, K. Ivens, L.C. Rump: Nierentransplantation bei hochimmunisierten Patienten, *Transplantationsmedizin* 2010, 22. Jahrg., S. 307
42. Lorenz et al: Peritransplant Immunoabsorption: A Strategy Enabling Transplantation in Highly Sensitized Crossmatch-Positive Cadaveric Kidney Allograft Recipients *Transplantation*: 27 March 2005 - Volume 79 - Issue 6 - pp 696-701, *Clinical Transplantation*
43. Beimler JH, Morath C, Schmidt J, Ovens J, Opelz G, Rahmel A et al. (2009) Successful deceased-donor kidney transplantation in crossmatch-positive patients with peritransplant plasma exchange and Rituximab. *Transplantation* 87 (5): 668-671
44. Lefaucheur C, Loupy A, Vernerey D, et al.: Antibody-mediated vascular rejection of kidney allografts: a population-based study. *Lancet* 2013; 381: 313–9.
45. Joachim Rassow, Karin Hauser, Roland Netzker, Rainer Deutzmann: *Biochemie, Duale Reihe, 2. aktualisierte Auflage (2008)*, Thieme Verlag (2006), Kapitel 26.6 Immunologie der Blutgruppenantigene, Seite: 732-733
46. www.drk-blutspende.de, Deutsches Rotes Kreuz, Informationen zur Blutspende/Blutgruppenverteilung
47. Genberg H, Kumlien G, Wennberg L, Tyden G. 2010. Isoagglutinin adsorption in ABO-incompatible transplantation. *Transfus Apher Sci*, 43 (2):231-235
48. Takahashi K. Recent findings in ABO-incompatible kidney transplantation: classification and therapeutic strategy for acute antibody-mediated rejection due to ABO-blood-group-related antigens during the critical period preceding the establishment of accommodation. *Clin Exp Nephrol* 2007;11(2):128-41.
49. Ishida H, Miyamoto N, Shirakawa H, *et al.* Evaluation of immunosuppressive regimens in ABO-incompatible living kidney transplantation--single center analysis. *Am J Transplant* 2007;7(4):825-31.
50. Egawa H, Tanabe K, Fukushima N, Date H, Sugitani A, Haga H. 2011. Current Status of Organ Transplantation in Japan. *Am J Transplant*
51. Takahashi K, Saito K. 2006. Present status of ABO-incompatible kidney transplantation in Japan. *Xenotransplantation*, 13 (2):118-122.
52. Morath C und Mitarbeiter: *Die ABO-inkompatible Organtransplantation- Stand und Perspektiven*, UNI-MED Verlag AG, 2010, Seite 58
53. Gloor JM, Lager DJ, Fidler ME, *et al.* A Comparison of splenectomy versus intensive posttransplant antidonor blood group antibody monitoring without splenectomy in ABO-incompatible kidney transplantation. *Transplantation* 2005;80(11):1572-77.

54. Sonnenday CJ, Warren DS, Cooper M, *et al.* Plasmapheresis, CMV hyperimmune globulin, and anti-CD20 allow ABO-incompatible renal transplantation without splenectomy. *Am J Transplant* 2004;4(8):1315-22.
55. Segev DL, Simpkins CE, Warren DS, *et al.* ABO incompatible high-titer renal transplantation without splenectomy or anti-CD20 treatment. *Am J Transplant* 2005;5(10):2570-5.
56. Montgomery RA, Locke JE. ABO-incompatible transplantation: less may be more. *Transplantation* 2007;84(12 Suppl):S8-9
57. Tyden G, Kumlien G, Fehrman I. Successful ABO-incompatible kidney transplantations without splenectomy using antigen-specific immunoadsorption and rituximab. *Transplantation* 2003;76(4):730-1.
58. Rydberg L, Bengtsson A, Samuelsson O, *et al.* In vitro assessment of a new ABO immunosorbent with synthetic carbohydrates attached to sepharose. *Transpl Int* 2005;17(11):666-72.
59. Kumlien G, Ullstrom L, Losvall A, *et al.* Clinical experience with a new apheresis filter that specifically depletes ABO blood group antibodies. *Transfusion* 2006;46(9):1568-75.
60. Tyden G, Donauer J, Wadstrom J, *et al.* Implementation of a Protocol for ABO-incompatible kidney transplantation--a three-center experience with 60 consecutive transplantations. *Transplantation* 2007;83(9):1153-5.
61. Genberg H, Kumlien G, Wennberg L, *et al.* ABO-incompatible kidney transplantation using antigen-specific immunoadsorption and rituximab: a 3-year follow-up. *Transplantation* 2008;85(12):1745-54.
62. Ahlenstiel T, Offner G, Strehlau J, *et al.* ABO-incompatible kidney transplantation of an 8-yr-old girl with donor/recipient-constellation A1B/B. *Xenotransplantation* 2006;13(2):141-7.
63. Donauer J, Wilpert J, Geyer M, *et al.* ABO-incompatible kidney transplantation using antigen-specific immunoadsorption and rituximab: a single center experience. *Xenotransplantation* 2006;13(2):108-10.
64. Norden G, Briggs D, Cockwell P, *et al.* ABO-incompatible live donor renal transplantation using blood group A/B carbohydrate antigen immunoadsorption and anti-CD20 antibody treatment. *Xenotransplantation* 2006;13(2):148-53.
65. Oettl T, Halter J, Bachmann A, *et al.* ABO blood group-incompatible living donor kidney transplantation: a prospective, single-centre analysis including serial protocol biopsies. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24(1):298-303.
66. Sousa, S.R., *et al.*, [Incidence of infectious complications and their risk factors in the first year after renal transplantation]. *J Bras Nefrol*, 2010. 32(1): p. 75-82.
67. Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB, Ginevri F, Gordon J, Limaye AP, Mihatsch MJ, Nickleit V, Ramos E, Randhawa P, Shapiro R, Steiger J, Suthanthiran M, Trofe J.: Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations. *Transplantation*. 2005 May 27;79(10):1277-86.
68. Patel, R. and C.V. Paya, Infections in solid-organ transplant recipients. *Clin Microbiol Rev*, 1997. 10(1): p. 86-124.
69. Kern WV, Wagner D: Infections after organ transplantation, *Internist (Berl)*., 2005 Jun; 46(6):630-42
70. Hirsch: BK virus: opportunity makes a pathogen, *Clin Infect Dis*. 2005 Aug 1; 41(3):354-60.

71. Hans W. Doerr, Wolfram H. Gerlich, Medizinische Virologie – Grundlagen, Diagnostik, Prävention viraler Erkrankungen, 2 Auflage, Thieme Verlag, Kapitel 30.3.8 Polyomavirus BK (BKV) und JC (JCV), Seite 295
72. Hirsch HH.: Polyomavirus BK nephropathy: a (re-)emerging complication in renal transplantation. *Am J Transplant.* 2002 Jan;2(1):25-30
73. Hodur DM, Mandelbrot D.: Immunosuppression and BKV Nephropathy. *N Engl J Med.* 2002 Dec 19;347(25):2079-80; author reply 2079-80.
74. Barri YM, Ahmad I, Ketel BL, Barone GW, Walker PD, Bonsib SM, Abul-Ezz SR.: Polyoma viral infection in renal transplantation: the role of immunosuppressive therapy. *Clin Transplant.* 2001 Aug;15(4):240-6.
75. Smits JM, Van Houwelingen HC, De MJ, Persijn GG, Claas FH. Analysis of the renal transplant waiting list: application of a parametric competing risk method. *Transplantation* 1998 Nov 15;66(9):1146-53.
76. Picascia A, Infante T, Napoli C. Luminex and antibody detection in kidney transplantation. *Clin Exp Nephrol* 2012 Jun;16(3):373-81.
77. Roelen DL, Doxiadis II, Claas FH. Detection and clinical relevance of donor specific HLA antibodies: a matter of debate. *Transpl Int* 2012 Jun;25(6):604-10.
78. Dr. med. Rainer Nowak, Dr. med. Rainer Birck: Dialyse und Nephrologie für Pflegeberufe, 2. Auflage, Springer Verlag (2002), Kapitel 18, Seite 406
79. Mueller-Eckhardt G, Lattermann A: Nachweis von HLA-Antigenen, HLA-Antikörpern und Histokompatibilität. In: Mueller-Eckhardt C (Hrsg): Transfusionsmedizin, 2. Auflage, Springer Verlag 1996, S.611- 617.
80. K. Solez u. a.: Report of the third Banff conference on allograft pathology (July 20-24, 1995) on classification and lesion scoring in renal allograft pathology. In: *Transplant Proc* 28, 1996, S.441–444. PMID 8644308 (Review)
81. K. Solez, Colvin RB, Racusen LC.: Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant.* 2008 Apr;8(4): 753-60
82. Nicleleit V, Mihatsch MJ: Kidney transplants, antibodies and rejection: is C4d a magic marker? *Oxford Journals, Nephrology Dialysis Transplantation*, Volume 18, Issue 11, Pp. 2232-2239
83. Kruskal, W. H. und Wallis, W. A.: Use of ranks in one-criterion variance analysis, in: *Journal of the American Statistical Association*, Vol. 47, 1952, S. 583-621
84. Dr. Christel Weiß: Basiswissen Medizinische Statistik, 5. überarbeitete Auflage 2010, Springer Medizin Verlag Heidelberg (1999), Seite 213
85. Montgomery RA, Zachary AA, Racusen LC et al. (2000) Plasmapheresis and intravenous immune globulin provides effective rescue therapy for refractory humoral rejection and allows kidneys to be successfully transplanted in cross-match-positive recipients. *Transplantation* 70: 887
86. Stegall MD, Gloor J, Winters JL, Moore SB, DeGoey S (2006) A comparison of plasmapheresis versus high-dose IVIG desensitization in renal allograft recipients with high levels of donor specific alloantibody. *Am J Transplant* 6 (2): 346-51
87. Jordan SC, Tyan D, Stablein D et al. (2004) Evaluation of intravenous immunoglobulin as an agent to lower sensitization and improve transplantation in highly sensitized adult patients with end-stage renal disease: report of the NIH IG02 trial. *J Am Soc Nephrol* 15: 3256

88. Vo AA, Lukovsky M, Toyoda M et al. (2008) Rituximab and intravenous immune globulin for desensitization during renal transplantation. *N Eng J Med* 359: 242
89. Munoz AS, Rioveros AA, Cabanayan-Casasola CB, Danguilan RA, Ona ET (2008) Rituximab in highly sensitized kidney transplant patients. *Transpl Proc* 40: 2218
90. Christian Morath, S.M. Schäfer, C. Süsal : Immunologische Barrieren überwinden, *Deutsches Ärzteblatt*, Jg.110, Heft 9, 03/2013, A384-385
91. Mengel M, Marwedel M, Radermacher J, Eden G, Schwarz A, Haller H, et al. Incidence of polyomavirus-nephropathy in renal allografts: influence of modern immunosuppressive drugs. *Nephrol Dial Transplant* 2003 Jun;18(6):1190-6.
92. Amico P, Hönger G, Mayr M: Clinical relevance of pretransplant donor-specific HLA antibodies detected by single-antigen flow-beads. *Transplantation*. 2009 Jun 15;87(11):1681-8.
93. Amico P, Hönger G, Biemann D: Incidence and prediction of early antibody-mediated rejection due to non-human leukocyte antigen-antibodies. *Transplantation*. 2008 Jun 15;85(11):1557-63
94. Esther M. Briganti et al.: Risk of Renal Allograft Loss from Recurrent Glomerulonephritis, *N Engl J Med* 2002; 347:103-109
95. Binet I, Nicleit V, Hirsch HH, Prince O, Dalquen P, Gudat F, et al. Polyomavirus disease under new immunosuppressive drugs: a cause of renal graft dysfunction and graft loss. *Transplantation* 1999 Mar 27;67(6):918-22.
96. Michelon, T., et al., Clinical relevance of low levels of preformed alloantibodies detected by flow cytometry in the first year post-kidney transplantation. *Transplant Proc*, 2005. 37(6): p. 2750-2
97. Susal, C. and G. Opelz, Kidney graft failure and presensitization against HLA class I and class II antigens. *Transplantation*, 2002. 73(8): p. 1269-73
98. Mizutani, K., et al., The importance of anti-HLA-specific antibody strength in monitoring kidney transplant patients. *Am J Transplant*, 2007. 7(4): p. 1027-31
99. Kobayashi, T., et al., Clinical value of HLA antibody monitoring after renal transplantation. *Clin Transpl*, 2006: p. 385-8.
100. Ozawa, M., et al., Longitudinal testing of 266 renal allograft patients for HLA and MICA antibodies: Greenville experience. *Clin Transpl*, 2006: p. 265-90
101. Terasaki, P.I. and M. Ozawa, Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial. *Am J Transplant*, 2004. 4(3): p. 438-43.
102. Lachmann, N., et al., Anti-human leukocyte antigen and donor-specific antibodies detected by luminex posttransplant serve as biomarkers for chronic rejection of renal allografts. *Transplantation*, 2009. 87(10): p. 1505-13.
103. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL et al.: Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med* 1999; 341(23): 1725-30.
104. Port FK, Wolfe RA, Mauger EA et al.: Comparison of survival probabilities for dialysis patients vs cadaveric renal transplant recipients. *JAMA* 1993; 270(11): 1339-43

105. Meier-Kriesche, H. U. and B. Kaplan (2002). "Waiting time on dialysis as the strongest modifiable risk factor for renal transplant outcomes: a paired donor kidney analysis." *Transplantation* 74(10): 1377-81.
106. Habicht: Increase of infectious complications in ABO-incompatible kidney transplant recipients-a single centre experience, *Nephrol Dial Transplant* (2011) 26: 4124-4131
107. Josephson MA, Gillen D, Javaid B, Kadambi P, Meehan S, Foster P, Harland R, Thistlethwaite RJ, Garfinkel M, Atwood W, Jordan J, Sadhu M, Millis MJ, Williams J. Treatment of renal allograft polyoma BK virus infection with leflunomide. *Transplantation* 2006; 81: 704-710.
108. Teschner S, Gerke P, Geyer M, Wilpert J, Krumme B, Benzing T, Walz G. Leflunomide therapy for polyomavirus-induced allograft nephropathy: efficient BK virus elimination without increased risk of rejection. *Transplant Proc.* 2009 Jul-Aug;41(6):2533-8.
109. Williams JW, Javaid B, Radambi PV, Gillen D, Harland R, Thistlewaite JR, Garfinkel M, Foster P, Atwood W, Millis JM, Meehan SM, Josephson MA. Leflunomide for polyomavirus type BK nephropathy. *N Engl J Med* 2005; 352: 1157-1158.
110. Preiksaitis, JK, Brennan, DC, Fishman, J, Allen, U.: Canadian society of transplantation consensus workshop on Cytomegalovirus management in solid organ transplantation final report. *Am J Transplant* 2005; 5:218.
111. Nada R, Sachdeva M, Sud K, Joshi V. Co-infection by cytomegalovirus and BK polyoma virus in renal allograft, mimicking acute rejection. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 994–996.
112. Toyoda M, Puliyaanda DP, Amet N, Baden L, Cam V, Radha R, Pao A, Vo A, Bunnapradist S, Moudgil A, Jordan SC. Co-infection of polyomavirus-BK and cytomegalovirus in renal transplant recipients. *Transplantation* 2005; 80: 198-205.
113. Montgomery JR, Berger JC, Warren DS, James NT, Montgomery RA, Segev DL. Outcomes of ABO-incompatible kidney transplantation in the United States. *Transplantation* 2012 Mar 27;93(6):603-9.
114. Takahashi K, Saito K. ABO-incompatible kidney transplantation. *Transplant Rev (Orlando)* 2013 Jan;27(1):1-8.
115. Bentall A, Cornell LD, Gloor JM, Park WD, Gandhi MJ, Winters JL, et al. Five-year outcomes in living donor kidney transplants with a positive crossmatch. *Am J Transplant* 2013 Jan;13(1):76-85.
116. Bagnasco SM, Zachary AA, Racusen LC, Arend LJ, Carter-Monroe N, Alachkar N, et al. Time course of pathologic changes in kidney allografts of positive crossmatch HLA-incompatible transplant recipients. *Transplantation* 2014 Feb 27;97(4):440-5.
117. Sharif A, Alachkar N, Bagnasco S, et al.: Incidence and outcomes of BK virus allograft nephropathy among ABO- and HLA-incompatible kidney transplant recipients., *Clin J Am Soc Nephrol.* 2012 Aug;7(8):1320-7

118. Barbosa D, Kahwaji J, Puliyaanda D, et al: Polyomavirus BK viremia in kidney transplant recipients after desensitization with IVIG and rituximab. *Transplantation*. 2014 Apr 15;97(7): 755-61
119. Sagedal S, Hartmann A, Rollag H. The impact of early cytomegalovirus infection and disease in renal transplant recipients. *Clin Microbiol Infect*. 2005 Jul; 11(7):518-30
120. Akalin E, Dinavahi R, et al.: Addition of plasmapheresis decreases the incidence of acute antibody-mediated rejection in sensitized patients with strong donor-specific antibodies. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008 Jul;3(4):1160-7
121. Lamberson HV, Dock NL (1992) Prevention of transfusion-transmitted cytomegalovirus infection. *Transfusion* 32:196
122. Hirsch HH, Steiger J. Polyomavirus BK. *Lancet Infect Dis* 2003 Oct; 3(10):611-23
123. Fishman JA. BK virus nephropathy--polyomavirus adding insult to injury. *N Engl J Med* 2002 Aug 15;347(7):527-30.
124. Mylonakis E, Goes N, Rubin RH, Cosimi AB, Colvin RB, Fishman JA. BK virus in solid organ transplant recipients: an emerging syndrome. *Transplantation* 2001 Nov 27;72(10):1587-92.
125. Bressollette-Bodin C, Coste-Burel M, Hourmant M, Sebille V, Andre-Garnier E, Imbert-Marcille BM. A prospective longitudinal study of BK virus infection in 104 renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2005 Aug;5(8):1926-33.

8 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

| | |
|---|----|
| <u>Abb. 1:</u> Beispiel eines Konditionierungsprotokolls bei DSA-Nierenlebenspende unter Einsatz von Plasmapheresebehandlungen und Rituximab..... | 19 |
| <u>Abb. 2:</u> Blutgruppenverteilung in Prozent in Deutschland..... | 21 |
| <u>Abb. 3:</u> Vergleich der möglichen Blutgruppenkonstellationen bei AB0-kompatibler (rechts) und AB0-inkompatibler (links) Organtransplantation | 23 |
| <u>Abb. 4:</u> Beispiel eines Konditionierungsprotokolls bei AB0-inkompatibler Nierenlebenspende unter Einsatz antigenspezifischer Immunadsorption und Rituximab..... | 25 |
| <u>Abb. 5, links:</u> Serum-Kreatininwerte 12 Monate postoperativ (ohne Patient mit Rekurrenz of Disease)..... | 48 |
| <u>Abb. 5, rechts:</u> Berechnete GFR nach 12 Monaten postoperativ (ohne Patient mit Rekurrenz of Disease)..... | 48 |
| <u>Abb. 6:</u> GFR-Verlauf innerhalb von 12 Monaten..... | 50 |

9 TABELLENVERZEICHNIS

| | |
|--|----|
| <u>Tab. 1:</u> Schema zur Auswahl der zu verwendenden Testerythrozyten..... | 40 |
| <u>Tab. 2:</u> Vereinfachte Darstellung der Banff-Klassifikation in Bezug auf „Banff 97 Diagnostische Kriterien für Transplantatnieren-Biopsien“ und „Banff 07 Update“ | 41 |
| <u>Tab. 3:</u> Patientencharakteristika von AB0i-, DSA-, Low-Risk und No-Risk-Gruppe... | 45 |
| <u>Tab. 4:</u> Single-Antigen (SA) MFI- Werte nach den durchgeführten Plasmapherese- Behandlungen vor der geplanten Tx..... | 47 |
| <u>Tab. 5:</u> Klassifikation der akuten Abstoßungen innerhalb der Gruppen..... | 51 |
| <u>Tab. 6:</u> HLA-Antikörper-Screening nach Transplantation..... | 53 |
| <u>Tab. 7:</u> Ergebnisse des HLA-Antikörper post-NTx Screenings..... | 53 |
| <u>Tab. 8:</u> Nierenfunktion gemessen anhand der eGFR [ml/min] in Korrelation zum Auftreten von HLA-AK..... | 54 |
| <u>Tab. 9:</u> BKV-Virämien und BKV-Nephropathien innerhalb der Gruppen..... | 55 |
| <u>Tab. 10:</u> CMV-Konstellationen..... | 56 |

11 DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich mich bei Frau PD Dr. med. Antje Habicht für die Überlassung des Themas dieser Arbeit, ihre fachliche Anleitung und die ausgezeichneten Möglichkeiten dieses Thema auszuarbeiten, bedanken. Ebenso danke ich Ihr für die Durchsicht meiner Arbeit und die vielen Hinweise, die zur Vollendung derselben notwendig waren.

Besonderen Dank schulde ich Frau Dr. med. Teresa Kauke, aus dem Immunogenetik Labor der Universität München, die mir zum Verständnis vieler Quellen verhalf und mir wichtige sachliche Hinweise gab.

Auch möchte ich mich bei allen Ärzten, Gesundheitspfleger/innen und Angestellten der Transplantationsambulanz und der Transplantationsstation H5 des Universitätsklinikum Großhadern für die interessante und hilfreiche Famulatur bedanken, die sehr zum Verständnis dieser Arbeit beigetragen hat.

Ein weiteres großes Dankeschön gilt Simon Gahr aus dem Nephrologielabor des Universitätsklinikums Großhadern, der mir einen Einblick in die statistische Auswertung der erhobenen Daten gab.

Anschließend möchte ich mich bei meinen drei besten Freundinnen Cosima König, Christine Farnik und Clarissa Weber bedanken, die mich das ganze Studium über und auch während der Doktorarbeit begleitet haben.

Danke, dass ihr immer ein offenes Ohr für mich hattet, mir mit Rat und Tat zur Seite standet und einfach immer für mich da gewesen seid.

Nicht zuletzt gilt mein Dank meiner Familie, hier besonders meiner Schwester Marisa Herbers und ihrem Ehemann Marcel Herbers. Danke ihr Zwei, dass ihr immer an mich geglaubt habt und mir mit der nötigen Anteilnahme und Motivation zur Seite standet.

Eidesstattliche Versicherung

Klimaschewski, Sandra (geb. 10.10.1987 in 46535 Dinslaken)

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema:

Klinische Relevanz einer Desensibilisierung vor ABO-inkompatibler
Nierentransplantation bzw. bei Vorliegen Donor-spezifischer HLA-Antikörper

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei anderen Stellen zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Ulm, 09.02.2016

.....
Sandra Klimaschewski