

Aus dem Institut für Pathologie Tübingen  
Abteilung Allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie  
Abteilungsleiter: Professor Dr. B. Bültmann

**Nierentransplantation:  
Analyse prognostisch relevanter Parameter unter  
besonderer Berücksichtigung plasmazellreicher  
Abstoßungsreaktionen**

**Morphologische und molekularbiologische  
Untersuchungen, sowie klinisch-morphologische  
Korrelationen**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von  
Thomas Kurt Eigentler  
aus Frickenhausen-Linsenhofen

2003

Dekan: Professor Dr. C.D. Claussen  
1. Berichterstatter: Professor Dr. H-V. Gärtner  
2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. M. Sessler

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	<b>6</b>
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>10</b>
2.1. Kollektive . . . . .	10
2.2. Definition der Abstoßungsreaktionen . . . . .	11
2.2.1. Akute Abstoßungsreaktion . . . . .	11
2.2.1.1. Interstitiell . . . . .	11
2.2.1.2. Vaskulär . . . . .	11
2.2.1.3. Glomerulär . . . . .	12
2.2.2. Chronische Abstoßungsreaktion . . . . .	12
2.2.2.1. Interstitiell . . . . .	12
2.2.2.2. Vaskulär . . . . .	12
2.2.2.3. Glomerulär . . . . .	13
2.2.3. Plasmazellreiche Abstoßungsreaktion . . . . .	13
2.3. Datenerfassung . . . . .	13
2.4. Morphologie . . . . .	14
2.4.1. Lichtmikroskopie . . . . .	14
2.4.2. Immunhistologie . . . . .	14
2.4.3. Elektronenmikroskopie . . . . .	14
2.5. Morphometrie . . . . .	14
2.6. Klinische Daten . . . . .	17
2.6.1. Klinische Parameter des Spenders . . . . .	17
2.6.2. Klinische Parameter - Empfänger-Spenderkonstellation . . . . .	17
2.6.3. Klinische Parameter des Empfängers prä-, intra- und postoperativ . . . . .	18
2.6.4. Klinische Parameter des Empfängers im weiteren Verlauf . . . . .	18
2.7. Verlaufsbeobachtungen und Risikofaktoren . . . . .	20
2.8. Molekularbiologie . . . . .	21
2.8.1. Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) . . . . .	21
2.9. Geräte . . . . .	21
2.10. Statistische Auswertung . . . . .	21
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>25</b>
3.1. Morphologische Parameter und ihre Beziehungen zueinander . . . . .	25
3.1.1. Interstitielle Abstoßungsreaktion . . . . .	25
3.1.2. Vaskuläre Abstoßung, Transplantatvaskulopathie (VAR) . . . . .	25
3.1.3. Glomeruläre Abstoßungsreaktion, Transplantatglomerulopathie (TGP) . . . . .	26
3.1.4. Plasmazellreiche interstitielle Abstoßungsreaktion . . . . .	26
3.1.5. Korrelation zwischen Plasmazellen und VAR/TGP . . . . .	27
3.2. Morphometrie . . . . .	28
3.3. Molekularbiologie . . . . .	36

3.4.	Transplantatüberlebensprognose - univariate Analyse . . . . .	37
3.4.1.	Gesamtkollektiv . . . . .	37
3.4.2.	Morphologische Parameter . . . . .	37
3.4.2.1.	Interstitielle Abstoßungsreaktionen . . . . .	37
3.4.2.1.1.	Akute und chronische interstitielle Abstoßung . . . . .	37
3.4.2.2.	Plasmazellreiche Abstoßungsreaktionen . . . . .	38
3.4.2.2.1.	Akute, plasmazellreiche Abstoßung . . . . .	38
3.4.2.2.2.	Chronische, plasmazellreiche Abstoßung . . . . .	38
3.4.2.3.	Vaskuläre Abstoßungsreaktionen (VAR) . . . . .	38
3.4.2.4.	Transplantatglomerulopathie (TGP) . . . . .	39
3.4.2.5.	Plasmazellreiche Abstoßungsreaktion und VAR±TGP . . . . .	39
3.4.3.	Spenderspezifische Faktoren . . . . .	42
3.4.3.1.	Spenderalter . . . . .	42
3.4.3.2.	Blutdruck bei NTx . . . . .	42
3.4.4.	Empfängerspezifische Faktoren . . . . .	43
3.4.4.1.	Grunderkrankung . . . . .	43
3.4.4.2.	Geschlecht des Empfängers . . . . .	44
3.4.4.3.	CMV-Status . . . . .	44
3.4.5.	Spender / Empfänger-Spender-Konstellationen . . . . .	45
3.4.5.1.	Geschlecht des Spenders / Empfängers . . . . .	45
3.4.5.2.	HLA-Matching . . . . .	45
3.4.5.3.	CMV-Status des Empfängers und des Spenders . . . . .	45
3.4.6.	Klinisch-operative Faktoren . . . . .	45
3.4.6.1.	Bluttransfusionen . . . . .	45
3.4.6.2.	Kaltischämiezeit . . . . .	46
3.4.7.	Immunologische Faktoren . . . . .	46
3.4.7.1.	HLA-Matching . . . . .	46
3.4.7.2.	Panel-reaktive Antikörper . . . . .	47
3.5.	Transplantatüberlebensprognose - multivariate Analyse . . . . .	50
<b>4.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>53</b>
4.1.	Konklusion . . . . .	68
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>70</b>
<b>A.</b>	<b>Auswahl der Gesichtsfelder</b>	<b>73</b>
<b>B.</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>76</b>
<b>C.</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>78</b>
<b>D.</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>79</b>

<b>Literatur</b>	<b>80</b>
<b>Danksagung</b>	<b>89</b>
<b>Lebenslauf</b>	<b>90</b>

## 1 Einleitung

Der Gedanke der Organersatztherapie hat lange Tradition. Erste Versuche fremde Organe oder Teile davon auf andere Individuen zu transplantieren fanden bereits im 17. Jahrhundert statt, allerdings waren diese aufgrund mangelnder Gefäßnahttechniken auf Hauttransplantate beschränkt.

Zu Beginn des 20. Jahrhundert unternahmen Mediziner dann erste Experimente, chronisch niereninsuffiziente Patienten durch eine Nierentransplantation zu therapieren. So experimentierte der Österreicher Emerich Ullmann erstmals 1902 mit extrakorporalen Nierentransplantaten an Kaninchen und Hunden (autologe und Xenotransplantation) [108], die Versuche scheiterten jedoch an einer raschen Thrombose des Spenderorgans. Erst mit neuen operativen Techniken und Methoden, etwa die Entwicklung der Gefäßnaht durch Alexis Carrel (1902, 1908), der dafür 1912 mit dem Nobelpreis geehrt wurde, waren die Grundvoraussetzungen für eine erfolversprechende Transplantation geschaffen.

Sehr schnell zeigte sich jedoch, daß optimierte chirurgische Methoden alleine kein Garant für ein funktionierendes Transplantat waren, vielmehr wurde deutlich, daß die transplantierten Organe entweder gar nicht, oder nur für kurze Zeit ihre Funktion aufnahmen und dann vom Empfängerorganismus abgestoßen wurden. Schon zu dieser Pionierzeit erkannte die Wissenschaft, daß es sich dabei einerseits um immunologische andererseits auch um nicht-immunologische Reaktionen des Empfängerorganismus gegen das Spenderorgan handelt. So postulierte Georg Schöne bereits 1912 die These [92, 8, 96], daß wohl immunologische Phänomene für das Transplantatversagen verantwortlich sein sollen. Doch erst Peter Brian Medawars Untersuchungen [61, 62] an Hauttransplantaten legten den Grundstein für das Verständnis immunologischer Reaktionen im Rahmen der Transplantatabstoßung.

Bis Mitte der 50iger Jahre waren Nierentransplantationen von Mißerfolgen gekennzeichnet; so scheiterten Versuche von Jabouly (1906, erste Xenotransplantation von Tier auf Mensch) [41], Voronoy (1933, erste Nierentransplantation von einem Kadaverspender) [111], Hume (1947) [39], Hamburger (1946;1953, erste Nierentransplantation von einem Lebendspender) [64] bereits nach wenigen Tagen an thrombosierten und/oder abgestoßenen Organen kläglich. Erst 1954 erfolgte die erste dauerhaft erfolgreiche Nierentransplantation zwischen eineiigen Zwillingen durch Murray [72].

Obwohl sich die chirurgische Technik der Nierentransplantation in den folgenden Jahren stetig verbesserte, waren die längerfristigen Ergebnisse enttäuschend. Dies lag zum einen an dem geringen pathophysiologischen Wissen und Verständnis der Abstoßungsreaktionen, andererseits an einer limitierten immunsuppressiven Therapie, die sich in den 50iger Jahren auf Hochdosis-Ganzkörperbestrahlungen beschränkte. Erste Verbesserungen der Transplantatprognose ergaben sich zwischen 1957 und 1960 mit der Beschreibung des Azathioprin durch Hitchings und Elion [26], die Entdeckung des immunsuppressiven Potentials durch Schwartz, Stack und Damashek [93] und die Einführung in die klinische Transplantationmedizin durch Murray und Calne [13, 71], wodurch auf die äußerst myelotoxischen

Ganzkörperbestrahlungen verzichtet werden konnte. Nur kurze Zeit später beschrieben Starzel et al. [100] die supportive Wirkung des Prednisolons im Rahmen der Azathioprintherapie. Die „anti-rejection“-Standardtherapie der folgenden Jahre bestand somit aus Azathioprin und Kortisonpräparaten.

Mitte der 70iger Jahre extrahierten Dreyfuss et al. [25] eine neue antilymphozellulär wirkende, immunsupprimierende Substanz aus *Trichoderma polysporum*, das Cyclosporin-A (CSA). Borel et al. [5] zeigten als erste die immunsupprimierende Wirkung an Hauttransplantaten bei Labormäusen. Im Gegensatz zur herkömmlichen Therapie verfügte CSA über eine deutlich geringere Myelotoxizität. CSA erwies sich im Laufe der folgenden Jahre als potentestes Immunsuppressivum, klinisch zuerst bei der Knochenmarkspende, später auch routinemäßig bei nierentransplantierten Patienten eingesetzt.

Die Triple-Therapie aus CSA, Azathioprin und Prednisolon stellte bis vor kurzem die Therapie der Wahl dar (alle Patienten dieser Untersuchung erhielten diese Therapie). In den letzten Jahren kamen allerdings neue Immunsuppressiva, etwa Tacrolimus (frühere Bezeichnung FK 506) oder MMF auf den Markt, die die ursprüngliche Therapie ergänzen oder ersetzen zu scheinen.

Obwohl die Optimierung von Transplantationsbedingungen und immunsuppressiver Therapie sowie effektivere Therapiemöglichkeiten in der Behandlung von Infektionen die Inzidenz als auch den Schweregrad der Abstoßungsreaktionen in den letzten Jahrzehnten signifikant senken konnten, kommt es auch in heutiger Zeit immer wieder zum Auftreten von Abstoßungsreaktionen gegen das transplantierte Organ, sie stellen eine gefürchtete Komplikation und einen entscheidenden kritischen Faktor für die Überlebensprognose des Transplantates dar.

Klinisch ist ein schnelles Erkennen der Abstoßungsreaktion sowie die Abgrenzung gegen nicht abstoßungsbedingte Veränderungen (z.B. isoliertes akutes Nierenversagen) für die entsprechende Therapie von zentraler Bedeutung. Weitreichende technisch-apparative sowie laborchemische Entwicklungen der letzten Jahre, so z.B. der spezifische und quantitative Nachweis von mRNA des Perforins und Granzyme B [53] oder die Bestimmung des Macrophage migration inhibitory factor (MIF) [9] im Urin bei Verdacht auf eine akute Abstoßungsreaktion, ermöglichten zwar eine diagnostische nicht-invasive Abschätzung des Abstoßungsprozesses, doch letztlich ist die invasive Nierenbiopsie weiterhin als entscheidende diagnostische Instanz zu betrachten [18, 43].

Die Morphologie einer Transplantatabstoßungsreaktion ist vielfältig und weist zusätzlich zu primären abstoßungsbedingten Veränderungen - in Form von mononukleären Infiltraten -, sekundäre, nicht abstoßungsbedingte Veränderungen auf, die das ursprüngliche morphologische Bild der Abstoßungsreaktion überlagern können. Um die histologischen Veränderungen der Abstoßungsreaktionen zu klassifizieren, hat sich mittlerweile die Banff-Klassifikation [85] etabliert, die in der täglichen Diagnostik richtungsweisend angewandt wird. Die Banff-Klassifikation orientiert sich dabei obligat an den interstitiellen Veränderungen, fakultativ

werden vaskuläre Abstoßungsprozesse beurteilt.

Diese Untersuchung befaßt sich mit der Morphologie der Abstoßungsreaktionen; ein besonderer Augenmerk gilt dabei neben den obligaten interstitiellen Abstoßungsreaktionen, fakultativen vaskulären und glomerulären Abstoßungsprozessen. Zusätzlich soll der Frage einer Assoziation morphologischer Befunde mit klinischen, immunologischen und nicht-immunologischen Faktoren nachgegangen werden.

Neben der histologischen Diagnose steht die Quantität und Qualität der einzelnen Zellfraktionen im Vordergrund. Mittels Morphometrie sollen die Infiltrate weiter spezifiziert und eventuelle Assoziationen sowie eine mögliche prognostische Relevanz erörtert werden.

In der aktuellen Literatur [103, 81] werden eine Vielzahl unterscheidlichster, sowohl klinisch-immunologischer und klinisch-nichtimmunologischer Einflußfaktoren auf die Transplantatüberlebensprognose in unterschiedlicher Kontroversität diskutiert. Die vorliegende Untersuchung soll deshalb zur Frage der prognostischen Bedeutung der einzelnen Faktoren darunter das Geschlecht sowie die Grunderkrankung des Empfängers, das Spendergeschlecht, Infektionen (insbesondere CMV), das HLA-Matching, die Kaltischämiezeit, die Anzahl verabreichter Bluttransfusionen, dem Blutdruck bei Transplantation und die Titer panel-reaktiver Antikörper, sowie zu ihrem Zusammenspiel und Abhängigkeiten Stellung nehmen. Darüber hinaus sollen die Faktoren mittels eines Rankings nach ihrer Wertigkeit hinsichtlich der Prognose aufgeschlüsselt werden.

Die Beantwortung dieser Fragen macht eine detaillierte Beobachtung und Korrelation der klinischen und morphologischen Verläufe erforderlich. Die unterschiedlichen Faktoren werden dabei mittels univariater Analysen einzeln betrachtet, ihre Abhängigkeit und Wertigkeit durch multivariate Analysen erfaßt.

Ein Schwerpunkt dieser Arbeit stellt die Rolle plasmazellreicher Abstoßungsreaktionen dar. Bereits vor über 20 Jahren wurden plasmazellreiche Infiltrate bei Abstoßungsprozessen im Rahmen morphologisch-deskriptiver Arbeiten von Busch et al. [10] sowie Garavoy et al. [31] beschrieben. Ihre Rolle in Bezug auf die Prognose des Transplantatüberlebens und weitreichende Korrelationen mit anderen morphologischen und klinischen Parametern blieben bis heute allerdings weitgehend unberücksichtigt und ungeklärt. So beschreiben David-Neto et al. [22] zwar den Plasmazellreichtum im Rahmen akuter Abstoßungsprozesse, sahen dies allerdings als Folge einer Infektion an. In neueren Publikationen sehen Charney et al. [16] und Meehan et al. [63] plasmazellreiche Infiltrate als eigenständige Komponente im Abstoßungsprozeß an.

Um speziell den Plasmazellreichtum als etwaigen prognostischen Faktor herauszustellen und zu analysieren ist es nötig das zu untersuchende Kollektiv hinsichtlich anderer möglicher Einflußfaktoren zu parallelisieren.

Bezüglich des Verlaufes soll der Vorstellung nachgegangen werden, ob der Plasmazellgehalt der einzelnen Biopsien im Krankheitsgeschehen zunimmt und das Organ final im Transplan-

tatversagen endet - der Plasmazellreichtum als prognostisch entscheidender Faktor ?  
Diese Frage soll anhand deskriptiver Morphologie, Morphometrie sowie uni- und multivariaten Analysen diskutiert werden.

Die bei der Entwicklung plasmazellreicher Abstoßungsprozesse bedeutsamen immunologischen Prozesse und Pathomechanismen sind Gegenstand aktueller Diskussionen und Forschungsaktivitäten [16, 63]; da häufig erst das Wissen um die pathogenetischen Zusammenhänge die Voraussetzung für gezielte präventive und therapeutische Konzepte in der Transplantationsmedizin sein kann. Schlußendlich sollte daher im Rahmen der Diskussion auf die bisherigen Vorstellungen zur Ätiologie und Pathogenese plasmazellreicher Abstoßungsprozesse eingegangen werden, sowie eine weiterreichende Hypothese aufgestellt werden.

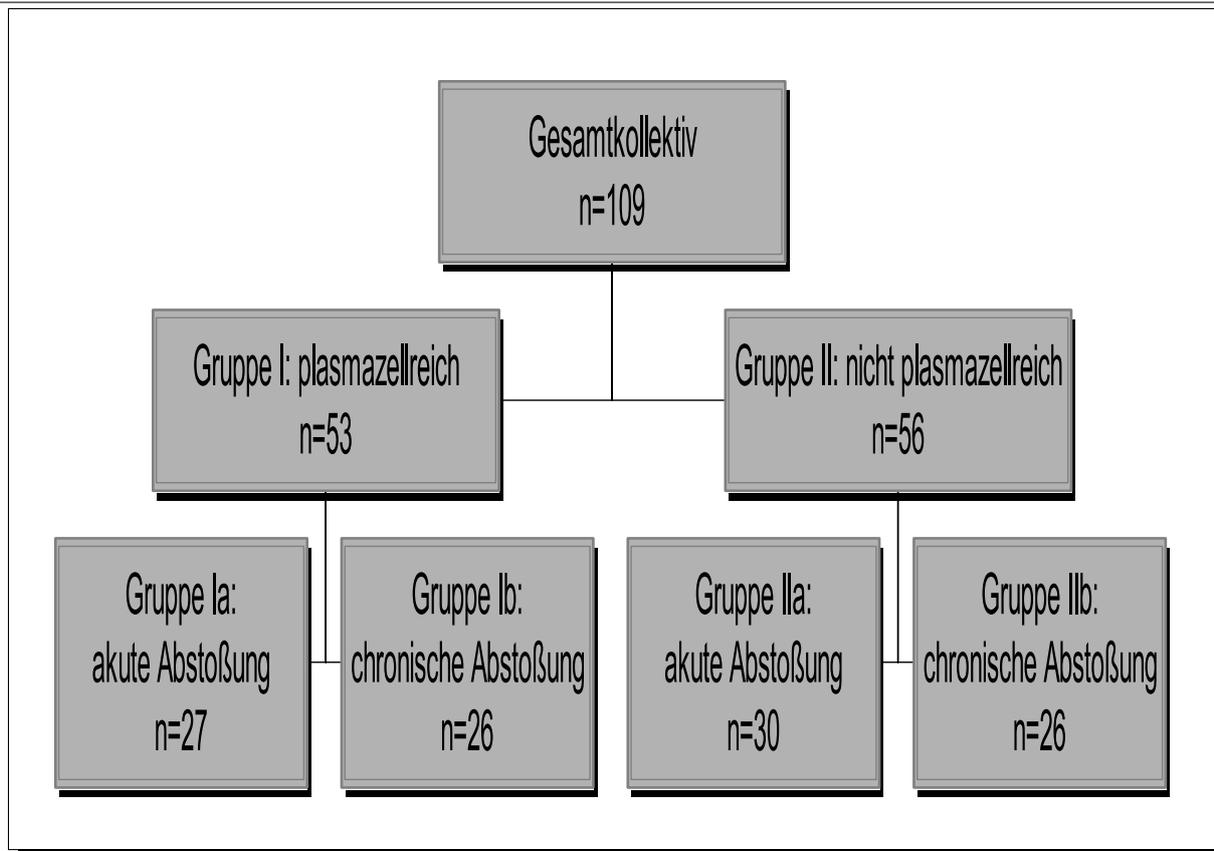
## 2 Material und Methoden

### 2.1 Kollektive

Das Gesamtkollektiv bestand aus 109 transplantierten Patienten (62 Männer, 47 Frauen), wobei die überwiegende Mehrzahl der Transplantationen (103 Patienten) in der Chirurgischen Klinik des Universitätsklinikums Tübingen erfolgte. 6 Patienten wurden im Klinikum Großhadern, München, transplantiert und im Zentralklinikum Augsburg nachbehandelt. Bei 14 Patienten wurde parallel zur Niere auch das Pankreas transplantiert. Alle untersuchten Biopsien entstammen dem Nierenregister des Instituts für Pathologie der Universität Tübingen aus den Jahren 1985 - 1998. Sämtliche Transplantationen wurden zwischen 1985 und 1996 durchgeführt, so daß bis zum Stichtag (01.01.1998) ein Beobachtungszeitraum von mindestens 2 Jahren gewährleistet war.

Von den 109 Patienten wurden insgesamt 357 Biopsien und 42 Explantate analysiert, wobei von der Mehrzahl der Patienten entsprechend deren Krankheitsverlauf mehrere Biopsien vorlagen.

**Abbildung 1: Kollektive** - Einteilung nach Abstoßungsreaktion und Plasmazellreichtum



Da im Zentrum der vorliegenden Untersuchung die Frage der Relevanz plasmazellreicher Abstoßungsreaktionen stand, wurde das Gesamtkollektiv in plasmazellreiche (Gruppe I) und nicht-plasmazellreiche (Gruppe II) Fälle eingeteilt und weiter in akute plasmazellreiche (Gruppe Ia), akute nicht-plasmazellreiche (Gruppe IIa), chronische plasmazellreiche (Gruppe IIa) und chronische nicht-plasmazellreiche (Gruppe IIb) Fälle unterteilt (Abbildung: 1, Seite 10). Entscheidend für die Zuteilung der Patienten zu einem der vier Unterkollektive war dabei die erste plasmazellreiche Biopsie. Bei Patienten, die überhaupt keine plasmazellreiche Biopsie in ihrem Verlauf aufzeigten, wurde die Kollektivzugehörigkeit in Abhängigkeit von der Anzahl akuter und chronischer Abstoßungsreaktionen festgelegt. Um gleiche Verhältnisse bei der Beurteilung zu gewährleisten, wurden die Kollektive untereinander nach Anzahl der Abstoßungsreaktionen, Geschlecht und Alter der Patienten sowie nach der Anzahl der Biopsien parallelisiert („clinically matched“).

## **2.2 Definition der Abstoßungsreaktionen**

Zumeist bedingen klinische Symptome, etwa ein Harnverhalt, ein Kreatininanstieg oder eine Temperaturerhöhung die Indikation zur Nierenbiopsie, oder bei schwerwiegenden Komplikationen gar zur Explantation des transplantierten Organes. In der klinisch-pathologischen Diagnostik werden mit dem Begriff „Abstoßungsreaktion“ immunologische Reaktionen des Empfängerorganismus gegen das transplantierte Organ definiert. Diese immunologische Reaktion findet bei transplantierten Nieren obligat im Interstitium, fakultativ im Bereich größerer renaler Gefäße - als Transplantatvaskulopathie bezeichnet - sowie im Bereich der Glomerula in Form einer Transplantatglomerulopathie, statt. Dabei basiert die Auswertung der Histologie im Detail auf folgenden morphologischen Bildern und Definitionen:

### **2.2.1 Akute Abstoßungsreaktion**

#### **2.2.1.1 Interstitiell**

Das histologische Bild der akuten interstitiellen Abstoßungsreaktion entspricht einer akuten interstitiellen Entzündung mit unterschiedlich dicht gelagerten Infiltraten mononukleärer Zellen im ödematös aufgelockerten Interstitium, wobei neben Makrophagen, CD4<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup>T-Lymphozyten, vereinzelt auch Granulozyten und Plasmazellen nachzuweisen sind [18]. Entscheidendes morphologisches Substrat einer interstitiellen Abstoßungsreaktion ist dabei die Tubulitis mit eingewanderten mononukleären Infiltraten im Tubulusepithelverband und Zeichen einer Tubulusdestruktion Grundsätzlich zeigt die akute interstitielle Abstoßungsreaktion per definitionem keine interstitielle Fibrose.

#### **2.2.1.2 Vaskulär**

Die akute vaskuläre Abstoßungsreaktion ist morphologisch durch eine Schwellung und Vakuolisierung aber auch Destruktion des Gefäßendothels sowie durch Infiltrate mononukleärer

Zellen im Bereich der Gefäßwand mit dem Bild einer Endothelialitis charakterisiert. Eine Infiltration der Intima durch Lymphozyten, Makrophagen und einzelnen Plasmazellen, wird als intimale Arteriitis, die der gesamten Gefäßwand, als transmurale Arteriitis bezeichnet. Neuere Arbeiten schließen mit dem Begriff „akute vaskuläre Abstoßungsreaktion“ zudem Abstoßungsprozesse im Bereich peritubulärer Kapillaren und Venen mit ein.

### **2.2.1.3 Glomerulär**

Akute glomeruläre Abstoßungsprozesse, als akute Transplantatglomerulopathie bezeichnet, präsentieren sich lichtmikroskopisch durch Schwellung sowie Ablösung und Destruktion des Endothels. Innerhalb der Kapillarlumina lassen sich vermehrt Makrophagen und T-Lymphozyten nachweisen. Das Mesangium ist häufig aufgelockert. In schweren Fällen können sich Schlingennekrosen mit einer Halbmondbildung entwickeln.

In der vorliegenden Untersuchung wurde als obligater Parameter die Quantität der interstitiellen Infiltrate nach einer Einteilung in 3 Schweregrade

- Grad I: geringgradig
- Grad II: mittelschwer
- Grad III: schwer

sowie weitere fakultative abstoßungsbedingte (vaskuläre Abstoßung, Transplantatglomerulopathie) und nicht-abstoßungsbedingte (Hyper- bzw. Minderperfusionsschäden, Glomerulosklerose) Befunde ausgewertet.

Bei zusätzlicher diskreter Fibrosierung des Interstitiums wurde die Diagnose einer akuten Abstoßungsreaktion mit beginnender Chronizität gestellt.

## **2.2.2 Chronische Abstoßungsreaktion**

### **2.2.2.1 Interstitiell**

Im Zentrum der chronischen interstitiellen Abstoßungsreaktion steht die unterschiedlich schwere interstitielle Fibrose, die Aktivität einer interstitiellen Abstoßungsreaktion wird durch die Quantität der Infiltrate bestimmt. Die Tubuli sind atrophisch und häufig destruiert.

### **2.2.2.2 Vaskulär**

Der chronisch vaskuläre Abstoßungsreaktion, als chronische Transplantatvaskulopathie bezeichnet, ist durch eine konzentrische Verdickung der Intima mit Stenosierung des Gefäßlumens gekennzeichnet. Im Lumen und in der Gefäßwand finden sich je nach Aktivität der Abstoßungsreaktion unterschiedlich dichte Infiltrate.

### 2.2.2.3 Glomerulär

Das chronische Stadium der Transplantatglomerulopathie ist durch Basalmembranneubildungsprozesse im subendothelialen Bereich charakterisiert, die mit dem histologischen Phänomen der Doppelkonturierung einhergehen.

Die chronische Abstoßungsreaktion wurde primär nach der Intensität der interstitielle Fibrose durch eine Unterteilung in drei Schweregrade beurteilt:

- Grad I: geringgradig
- Grad II: mittelschwer
- Grad III: schwer

Zusätzlich wurden die immunologischen Aktivitätszeichen, d.h. die Quantität der Infiltrate (CD4<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup>T-Lymphozyten und Makrophagen) mit Differenzierung in drei Schweregrade (geringgradig, mittelschwer, schwer) beurteilt, sowie weitere fakultative abstoßungsbedingte Parameter (vaskuläre Abstoßung, Transplantatglomerulopathie) ausgewertet.

### 2.2.3 Plasmazellreiche Abstoßungsreaktion

Während normalerweise CD4<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup>T-Lymphozyten und Makrophagen das histologische Bild einer Abstoßungsreaktion bestimmen, fallen bei einem Teil der Biopsien und Explantaten plasmazellreiche Infiltrate auf.

Um eine Biopsie als plasmazellreich zu werten, wurde die Anzahl der interstitiell lokalisierten Plasmazellen in Relation zu der Gesamtzahl der infiltrierten Zellpopulationen gesetzt. Waren dabei mindestens 20 % aller Infiltrate Plasmazellen, so wurde die Biopsie als plasmazellreich bewertet. Die Quantität der Plasmazellinfiltrate wurde histologisch mit wenig [+], mäßig viel [++] und zahlreich [+++] beurteilt. Außerdem wurde die Quantität der Infiltrate im Verhältnis zu ihrer Lokalisation (peritubulär, perivaskulär und periglomerulär) untersucht. Bei eindeutig plasmazellreichen Biopsien wurde die Kollektivzuordnung semiquantitativ anhand der Lichtmikroskopie durchgeführt, bei grenzwärtigen Befunden erfolgte eine detaillierte Auszählung der Infiltrate mittels Morphometrie<sup>1</sup>.

## 2.3 Datenerfassung

Sämtliche Daten wurden anhand von Erfassungsbögen dokumentiert. Morphologische Befunde wurden für jede Biopsie oder jedes Explantat anhand eines tabellarischen Bogens (Abbildung 2, Seite 15) ausgewertet und notiert. Die Dokumentation der klinischen und laborchemischen Parameter erfolgte zum Zeitpunkt der Transplantation mit Erfassung der Empfänger- (Abbildung 5, Seite 19) und Spenderdaten (Abbildung 4, Seite 18), sowie im weiteren Verlauf im Rahmen der Nachsorge bei Biopsie- oder Explantationsdatum (Abbildung 6, Seite 20).

---

<sup>1</sup>Absatz - 2.5 Morphometrie, Seite 14

## 2.4 Morphologie

Alle Biopsien wurden lichtmikroskopisch und immunhistologisch, Fälle mit zusätzlichen Befunden (vaskuläre Abstoßungsreaktion, Transplantatglomerulopathie) auch elektronenmikroskopisch beurteilt. Die elektronenmikroskopische Untersuchung war erforderlich um Veränderungen in Form einer Transplantatglomerulopathie von einer Immunkomplex- oder de novo-Glomerulonephritis - Ausschlußkriterium für die Kollektiveinbindung - zu unterscheiden.

### 2.4.1 Lichtmikroskopie

Von den in 4%igem Formalin fixierten, in Paraffin eingebetten Gewebeproben wurden 3-5  $\mu\text{m}$  dicke Schnitte hergestellt, die anschließend durch ein standardisiertes Verfahren nach der PAS-Methode gefärbt wurden.

### 2.4.2 Immunhistologie

Die immunhistologischen Untersuchungen der Nierenbiopsien erfolgten zur Qualitäts- und Quantitätsbestimmung der zellulären Infiltrate (Makrophagen,  $\text{CD4}^+$ -,  $\text{CD8}^+$ -T-Lymphozyten, B-Lymphozyten), sowie zum Nachweis von Immunglobulinen und Komplementkomponenten, d.h. zur Bestätigung oder Ausschluß von Immunkomplexablagerungen.

Zur Darstellung der einzelnen Zellpopulationen wurden spezielle Antikörper benutzt, die aus der Tabelle 1, Seite 16 zu entnehmen sind. Die Immunglobuline wurden mittels der konventionellen PAP-Methode bestimmt.

### 2.4.3 Elektronenmikroskopie

Von den in Araldit eingebetteten Gewebeproben, die mit Osmium-Uranyl-Acetat kontrastiert und zusätzlich mit Blei-Citrat nachkontrastiert wurden, konnten mittels des Ultramikrotrom Ultradünnschnitte (Schichtdicke: 0,5  $\mu\text{m}$ ) angefertigt und diese elektronenmikroskopisch ausgewertet und fotodokumentiert werden.

## 2.5 Morphometrie

Die morphometrische Auswertung erfolgte durch manuelle Auszählung von 10 zufällig ausgewählten Gesichtsfeldern pro Biopsie und diente der quantitativen und qualitativen Analyse der mononukleären Infiltrate ( $\text{CD4}^+$ -,  $\text{CD8}^+$ -T-Lymphozyten, Makrophagen, B-Lymphozyten, Plasmazellen).

Um eine zufällige Verteilung der auszuwertenden Gesichtsfelder zu gewährleisten, wurden geeignete Biopsien anhand eines Zählokulars in vertikal und horizontale Felder eingeteilt (Skizze: Abbildung 3, Seite 17). Anhand eines eigens entwickelten Computerprogramms<sup>2</sup> wurden 10 zufällig gewählte Gesichtsfelder bestimmt und anschließend unter dem Mikroskop unter Anwendung eines Zählokulars mit Rasterung der Feldgröße von 65  $\mu\text{m}^2$  bei

<sup>2</sup>Anhang: Auswahl der Gesichtsfelder, Seite 73

**Abbildung 2: Erhebungsbogen - morphologische Befunde**

Transplantatglomerulopathie	ja / nein akut / chronisch
Vaskuläre Abstoßungsreaktion	ja / nein akut / chronisch
Tubulitis	ja / nein
Tubulusdestruktion	ja / nein
Tubulusatrophie	ja / nein
Interstitielle Abstoßungsreaktion	ja / nein akut / chronisch
Interstitielles Ödem	ja / nein
Interstitielle Fibrose	keine Fibrose geringgradig mittelgradig schwer
Verteilung der Infiltrate	diffus, fokal diffus, zusätzlich mit fokalen Herden
Lokalisation der Infiltrate	ohne Bezug perivaskulär periglomerulär perivaskulär+periglomerulär
Qualität der Infiltrate	Lymphozyten, Makrophagen Plasmazellen, Granulozyten gemischt

**Tabelle 1: Immunhistologische Färbungen** - verwendete Antikörper

<i>Zellpopulation</i>	<i>Antikörper</i>	<i>Verdünnung</i>	<i>Vorbehandlung</i>	<i>Klonalität</i>	<i>Bezugsquelle</i>
CD4 <sup>+</sup> -Lymphoz.	Anti-CD4 <sup>+</sup>	1:20	Dampfkochoptopf	monoklonal	NovoCastra, Newcastle
CD8 <sup>+</sup> -Lymphoz.	Anti-CD8 <sup>+</sup>	1:200	Dampfkochoptopf	monoklonal	Dako, Hamburg
B-Lymphozyten	L26	1:1000	Dampfkochoptopf	monoklonal	Dako, Hamburg
Makrophagen	PGM1	1:500	Pronase	monoklonal	Dako, Hamburg
<i>Immunglobulin</i>	<i>Antikörper</i>	<i>Verdünnung</i>	<i>Vorbehandlung</i>	<i>Klonalität</i>	<i>Bezugsquelle</i>
IgG	Anti-IgG	1:40 000	Pronase	monoklonal	Dako, Hamburg
IgA	Anti-IgA	1:10	Pronase	polyklonal	Dako, Hamburg
IgM	Anti-IgM	1:2000	Pronase	monoklonal	Dako, Hamburg
C3	Anti-C3	1:1000	Pronase	monoklonal	Dako, Hamburg
C1q	Anti-C1q	1:500	Pronase	monoklonal	Dako, Hamburg

400-facher Vergrößerung („high-power-field“) ausgewertet.

War ein ermitteltes Gesichtsfeld für die Auswertung ungeeignet (z.B. kein Rindengewebe) wurde ein alternatives, geeignetes Gesichtsfeld ebenfalls randomisiert ausgewählt, so daß eine kontinuierliche Auswertung von 10 Gesichtsfeldern pro Biospie gewährleistet war.

**Abbildung 3: Schema - Bestimmung der Gesichtsfelder;** die maximale Anzahl der Gesichtsfelder wird durch Auszählung mittels Zählokkular in der horizontalen und vertikalen Ausrichtung ( $x*y$ ) bestimmt. Sie ist die Eingabegröße für das Computerprogramm.

Gesichtsfelder - vertikal	1	2	3	4	.	.	.	.	.	x
	2									
	3									
	4									
	.									
	.									
	.									
	.									
	y									$x*y$
	Gesichtsfelder - horizontal									

## 2.6 Klinische Daten

Vor der Transplantation wurden klinische Parameter des Spenders und Empfängers dokumentiert. Um den klinischen Verlauf der transplantierten Patienten zu verfolgen, wurden außerdem bei jeder Biopsieentnahme klinische und laborchemische Parameter des Empfängers ermittelt.

### 2.6.1 Klinische Parameter des Spenders

Von dem Spender wurden - soweit erruierbar - das Alter bei Organspende, das Geschlecht, der CMV-Status sowie der Blutdruck dokumentiert.

### 2.6.2 Klinische Parameter - Empfänger und Spenderkonstellation

Im Rahmen der Spender- und Empfängerkonstellation wurde an erster Stelle das HLA-Mismatching berücksichtigt (HLA-A-, HLA-B-, HLA-DR-, HLA-Gesamt-Mismatch). Beim

**Abbildung 4: Erhebungsbogen** - Klinische Parameter des Spenders zum Zeitpunkt der Transplantation

Geschlecht	männlich / weiblich
Alter	in Jahren
Kreatinin bei Entnahme	mg/dl
CMV-Status	pos. / neg. / unbek.
Blutdruck bei Entnahme (syst. / diast.)	mmHg

HLA-Mismatching wurden die nicht übereinstimmenden Antigene gewertet (bei HLA-A-, HLA-B-, HLA-DR-Mismatch: 0 = komplette Übereinstimmung, 2 = keine Übereinstimmung des Locus, bei HLA-Gesamt-Mismatch: 0 = komplette Übereinstimmung, 6 = keine Übereinstimmung der Antigene). Ebenfalls berücksichtigt wurde die CMV-Serologie-Konstellation zwischen Spender und Empfänger.

### **2.6.3 Klinische Parameter des Empfängers prä-, intra- und postoperativ**

Neben spezifischen Patientendaten (Geburtsdatum, Geschlecht, Alter bei NTx) wurde die Ursache der terminalen Niereninsuffizienz (z.B. chronisch interstitielle Nephritis, chronische Pyelonephritis, Zystennieren, Analgetikanephropathie [Abbildung 29, Seite 43]), eine kombinierte Nieren-Pankreastransplantation, primär nicht-immunologische Parameter (CMV-Status, Anzahl der Bluttransfusionen intraoperativ bzw. kurz postoperativ, Kaltischämiezeit) sowie immunologische Faktoren (maximaler Titer panel-reaktiver Antikörper innerhalb des Beobachtungszeitraumes [PRA max.], PRA vor Tx, PRA nach Tx) und die medikamentöse immunsuppressive Therapie direkt nach Tx (Cyclosporin A, Azathioprin, Cortison, ATG/ALG) erfaßt. Zusätzlich wurde eine supportive Dialyse direkt nach Tx, sowie eine eventuelle szintigraphische Transplantatfunktionskontrolle dokumentiert.

### **2.6.4 Klinische Parameter des Empfängers im weiteren Verlauf, jeweils zum Zeitpunkt der Biopsie**

Parallel zur Verlaufsbiopsie wurden bei jedem Patienten folgende klinische und laborchemische Parameter erfaßt: Alter, Zeitspanne zwischen Transplantation und Biopsie, aktueller Kreatinin-Wert, aktueller Blutdruck, eine eventuell indizierte Dialysetherapie sowie eine notwendige Explantation.

**Abbildung 5: Erhebungsbogen** - Daten des Empfängers zum Zeitpunkt der NTx, sowie Parameter zur Empfänger-Spenderkonstellation

Geburtsdatum	
Geschlecht	männlich / weiblich
Alter bei Transplantation	in Jahren
Ursache der terminalen Niereninsuffizienz	
Niere+Pankreas-Transplantation	nein / ja / unbek.
CMV-Status	pos. / neg. / unbek.
Bluttransfusionen	Anzahl
PRA maximal	in %
PRA vor Tx	in %
PRA nach Tx	in %
HLA-A-Mismatch	[ 0-2 ]
HLA-B-Mismatch	[ 0-2 ]
HLA-DR-Mismatch	[ 0-2 ]
HLA-Gesamt-Mismatch	[ 0-6 ]
Kaltischämiezeit	in h / min
Dialyse nach Tx	ja / nein
Szintigraphische Kontrolle	ja / nein
Medikation: Cyclosporin A nach Tx	ja / nein
Medikation: Azathioprin nach Tx	ja / nein
Medikation: Cortison nach Tx	ja / nein
Medikation: ATG/ALG nach Tx	ja / nein

**Abbildung 6: Erhebungsbogen** - Klinische Parameter des Empfängers zum Zeitpunkt der Biopsie

Alter des Patienten	in Jahren
Zeit zwischen Transplantation und Biopsie	in Monaten
Kreatinin	mg/dl
Blutdruck (syst. / diast.)	mmHg
Dialyse	ja / nein
Explantation	ja / nein

## 2.7 Verlaufsbeobachtungen und potentielle Risikofaktoren für die Transplantatüberlebensprognose

Der klinische Verlauf der transplantierten Patienten erstreckte sich durchschnittlich über einen Zeitraum von 4,3 Jahre ( $x=52$  Monate), wobei grundsätzlich drei Möglichkeiten des Transplantatschicksals in der Auswertung berücksichtigt wurden:

- Der Patient hatte zum Ende des Beobachtungszeitraum ein funktionierendes Spenderorgan.
- Der Patient mußte aufgrund eines Transplantatversagens wieder dialysiert werden oder wurde retransplantiert.
- Der Patient ist während des Beobachtungszeitraumes mit funktionierendem Transplantat verstorben.

Die Verlaufsbeobachtungen umfaßten den morphologischen Vergleich der einzelnen Biopsien untereinander, sowie die Korrelationen mit klinischen (Ursache der terminalen Niereninsuffizienz, Niere+Pankreas-Transplantation, Anzahl der Bluttransfusionen, PRA max., PRA vor NTx, PRA nach NTx, HLA-A-, HLA-B-, HLA-DR-, HLA-Gesamtmismatch, Kaltischämiezeit, Medikation) und spender- sowie empfängerspezifischen Parametern (Geschlecht, Alter bei NTx, CMV-Status).

Um die einzelnen möglicherweise prognostisch relevanten Parameter zu bestimmen, wurden Transplantatüberlebensraten (Kaplan-Maier-Kurven) mittels univariater Analysen berechnet. Als Einflußgrößen wurde das Auftreten einer vaskulären Abstoßung, einer Transplantatglomerulopathie, der Plasmazellreichtum, das HLA-Mismatch (HLA-A, HLA-B, HLA-DR und Gesamtmismatch), die Titer vor und unmittelbar postoperativ der panel-reaktiven-Antikörper, sowie deren maximaler Wert im Verlauf des Beobachtungszeitraumes, eine CMV-

Infektion, die Anzahl der Blutkonserven, das Geschlecht des Empfängers, das Alter des Spenders, sowie die Empfänger-Spendergeschlecht-Konstellation untersucht.

## **2.8 Molekularbiologie**

Um die Relevanz von Herpes-Viren (EBV-, CMV-, HSV1-, HSV2-, HHV6) in der Genese plasmazellreicher Abstoßungsprozesse zu untersuchen, wurde der Nachweis von Herpes-Viren-Genomen mittels nested PCR durchgeführt.

### **2.8.1 Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)**

Die PCR ist eine *in vitro-Methode* zur Amplifikation von DNA, die auf einer enzymatischen Synthese von DNA-Sequenzen mittels DNA-Polymerase beruht [86, 70]. Grundlage der PCR ist die zyklische Wiederholung von thermischer Denaturierung, Primerhybridisierung (Annealing) und DNA-Synthese (Elongation). Spezifische Oligonukleotide (Primer) flankieren den zu vermehrenden DNA-Abschnitt von den 3'-Einzelstrangenden her und dienen als Initiationsstelle für den Polymerisationsprozeß der thermostabilen DNA-Polymerase.

Die Methode der nested PCR dient z.B. zum Nachweis von Krankheitserregern, die nur in einer geringen Kopienanzahl vorliegen. Dabei wird in einer 1. PCR Runde das virale Material amplifiziert. Dies reicht jedoch meist nicht aus um es im Agarosegel darzustellen. Deshalb wird mittels eines zweiten Primerpaares, welches innerhalb des amplifizierten Segmentes liegt, eine 2. PCR Runde durchgeführt. Dadurch erhöht sich die Spezifität, zum anderen wird durch diese 2. PCR-Amplifikation die Nachweisgrenze von viralen Krankheitserregern um ein vielfaches erhöht. Abschließend erfolgt die Darstellung der PCR-Amplifikante mittels Elektrophorese im 2y. TBE-Agarosegel, wobei die DNA-Fragmente nach ihrer Größe aufgetrennt werden. Unter Zuhilfenahme von Ethidiumbromid, das sich zwischen den GC-Basenpaaren einlagert und mit der DNA einen Komplex bildet, können die Fragmente sichtbar gemacht werden [95]. Nach Abschluß der Elektrophorese können die DNA-Fragmente im kurzwelligen Licht identifiziert werden.

Am Ende des Kapitels sind die PCR-Protokolle für die einzelnen DNA-Viren (Tabelle 3-7, Seite 22-24) angegeben.

## **2.9 Geräte**

Für die histologische Diagnostik sowie die Morphometrie wurden folgende Geräte verwendet (Tabelle 2, Seite 22).

## **2.10 Statistische Auswertung**

Alle erhobenen Daten wurden patienten-anonym verschlüsselt und als Datenbank elektronisch erfaßt. Die statistische Auswertung erfolgte an MS-DOS®-Windows®-PCs mit dem Statistical Analysis System (SAS®), SAS Institute Inc., Version 6.12, Cary, NC. Zur Auswertung der multivariaten Analysen wurde das Programm JMP, SAS Institute Inc., Versi-

**Tabelle 2: Produkte und Hersteller**

Lichtmikroskop BH2	Olympus, Hamburg, Deutschland
Lichtmikroskop 473011-9901	Zeiss, Oberkochen, Deutschland
Zählokkular mit Gitterraster	Zeiss, Oberkochen, Deutschland
Elektronenmikroskop EM 10	Zeiss, Oberkochen, Deutschland
AMIGA 2000 Computer	AMIGA Inc., Langen, Deutschland

on 3.1.5, Cary, NC. eingesetzt. Die Prüfung auf Signifikanz mittels Vier-Felder-Tafeln und Gruppenvergleichen mit mehreren Ausprägungsgraden erfolgte anhand des Chi Square-Tests. Der Vergleich von Mittelwerten wurde durch T-Test durchgeführt. Bei der Bestimmung der Transplantatüberlebensprognose mittels univariater Analysen kamen Log-Rank-Tests zur Anwendung. Zielgröße war die wiederkehrende Dialysepflichtigkeit. Die multivariate Analysen wurden nach dem Cox-Proportional-Hazard-Model durchgeführt. Ein Signifikanzniveau von  $p \leq 0.05$  war Mindestvoraussetzung für die Annahme einer signifikanten Differenz.

**Tabelle 3: HCMV - Protokoll der PCR-Untersuchungen**

<i>Primer</i>	<i>Basenfolge 5'-3'</i>		<i>Paare</i>
1. PCR: RZ-IE3	GGACATCTTTCTCGGGGTTCTCG		23mer
1. PCR: RZ-IE4	GACACGATGGAGTCCTCTGCC		21mer
nested PCR: RZ-IE1	CGGCCAACTCTGGAAACAGCGGG		23mer
nested PCR: RZ-IE2	CCCTGATAATCCTGACGAGGGCCC		24mer

PCR-Bedingungen:

	Temp.	Zeit		Temp.	Zeit
<b>1. PCR</b>			<b>n. PCR</b>		
Denaturierung	94° C	30 sec.	Denaturierung	94° C	30 sec.
Annealing	56° C	30 sec.	Annealing	56° C	30 sec.
Elongation	72° C	45 sec.	Elongation	72° C	45 sec.

Erwartete PCR-Basenpaare: 1. PCR: 364/250bp, n.PCR: 269/155bp

*Quelle:* Chee, M.S., Bankier, A.T., Beck, S., Bohni, R., Brown, C.M., Cerny, R., Horsnell, T., Hutchison III, C.A., Kouzarides, T., Martignetti, J.A., Preddie, E., Satchwell, S.C., Tomlinson, P., Weston, K.M. and Barrell, B.G.: Analysis of the protein-coding content of the sequence of human cytomegalovirus strain AD169, *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 154, 125-169 (1990) *Modifiziert von Ch. Aepinus*

**Tabelle 4: EBV - Protokoll der PCR-Untersuchungen**

<i>Primer</i>	<i>Basenfolge 5'-3'</i>		<i>Paare</i>
1. PCR: EBVNA 1A	AAGGAGGGTGGTTTGGAAAG		20mer
1. PCR: EBVNA 2A	AACAGACAATGGACTCCCTTAG		20mer
nested PCR: EBVNA 1N	ATCGTGGTCAAGGAGGTTCC		20mer
nested PCR: EBVNA 2N	ACTCAATGGTGTAAAGACGAC		20mer

PCR-Bedingungen:

	Temp.	Zeit		Temp.	Zeit
<b>1. PCR</b>			<b>n. PCR</b>		
Denaturierung	94° C	30 sec.	Denaturierung	94° C	30 sec.
Annealing	56° C	30 sec.	Annealing	56° C	30 sec.
Elongation	72° C	45 sec.	Elongation	72° C	45 sec.

Erwartete PCR-Basenpaare: 1. PCR: 296 bp, n.PCR: 208bp

*Quelle:* Parker,B.D., Bankier,A., Satchwell,S., Barrell,B. and Farrell,P.J.: Sequence and transcription of Raji Epstein-Barr virus DNA spanning the B95-8 deletion region, *Virology* 179 (1), 339-346 (1990). *Modifiziert von Ch. Aepinus*

**Tabelle 5: HHV6 - Protokoll der PCR-Untersuchungen**

<i>Primer</i>	<i>Basenfolge 5'-3'</i>		<i>Paare</i>
1.P.:HHV 6-1A	TCTCACAGGCCAGGACAATGGATTATATAT		30mer
1.P.:HHV 6-2A	TGAGATCATTCTCCCGTTCTTGAGGG		26mer
n.P.:HHV 6-1N	TCCACTACTTAAAACCGA		18mer
n.P.:HHV 6-2N	TGATGAAGTATGTGATAG		18mer

PCR-Bedingungen:

	Temp.	Zeit		Temp.	Zeit
<b>1. PCR</b>			<b>n. PCR</b>		
Denaturierung	94° C	30 sec.	Denaturierung	94° C	30 sec.
Annealing	50° C	30 sec.	Annealing	50° C	30 sec.
Elongation	72° C	45 sec.	Elongation	72° C	45 sec.

Erwartete PCR-Basenpaare: 1. PCR: 160 bp, n.PCR: 90bp

*Quelle:* Isegawa,Y., Mukai,T., Nakano,K., Kagawa,M., Chen,J., Mori,Y., Sunagawa,T., Kawanishi,K., Sashihara,J., Hata,A., Zou,P., Kosuge,H. and Yamanishi,K.: Comparison of the complete DNA sequences of human herpesvirus 6 variants A and B, *J. Virol.* 73 (10), 8053-8063 (1999). *Modifiziert von Ch. Aepinus*

**Tabelle 6: HSV-1 - Protokoll der PCR-Untersuchungen**

<i>Primer</i>	<i>Basenfolge 5'-3'</i>		<i>Paare</i>
1. PCR: HSV1-1	ATCACGGTAGCCCCGGCCGTGTGACA		25mer
1. PCR: HSV1-2	CATACCGGAACGCACCACACAA		22mer
nested PCR: HSV1-3	CCATACCGACCACACCGACGA		21mer
nested PCR: HSV1-4	GGTAGTTGGTCGTTCGCGCTGAA		23mer

PCR-Bedingungen:

	Temp.	Zeit		Temp.	Zeit
<b>1. PCR</b>			<b>n. PCR</b>		
Denaturierung	94° C	30 sec.	Denaturierung	94° C	30 sec.
Annealing	56° C	30 sec.	Annealing	56° C	30 sec.
Elongation	72° C	45 sec.	Elongation	72° C	45 sec.

Erwartete PCR-Basenpaare: 1. PCR: 220bp, n.PCR: 137bp

*Quelle:* Aurelius E., Johansson B., Skoldenberg B., Forsgren M.: Encephalitis in immunocompetent patients due to herpes simplex virus type 1 or 2 as determined by type-specific polymerase chain reaction and antibody assays of cerebrospinal fluid, J. Med. Virol. 39:179-186 (1993).

**Tabelle 7: HSV-2 - Protokoll der PCR-Untersuchungen**

<i>Primer</i>	<i>Basenfolge 5'-3'</i>		<i>Paare</i>
1. PCR: HSV2-1	TCAGCCCATCCTCCTTCGGCAGTA		24mer
1. PCR: HSV2-2	GATCTGGTACTCGAATGTCTCCG		23mer
nested PCR: HSV2-3	AGACGTGCGGGTCGTACACG		20mer
nested PCR: HSV2-4	CGCGCGGTCCCAGATCGGCA		20mer

PCR-Bedingungen:

	Temp.	Zeit		Temp.	Zeit
<b>1. PCR</b>			<b>n. PCR</b>		
Denaturierung	94° C	30 sec.	Denaturierung	94° C	30 sec.
Annealing	56° C	30 sec.	Annealing	56° C	30 sec.
Elongation	72° C	45 sec.	Elongation	72° C	45 sec.

Erwartete PCR-Basenpaare: 1. PCR: 183bp, n.PCR: 100bp

*Quelle:* Aurelius E., Johansson B., Skoldenberg B., Forsgren M.: Encephalitis in immunocompetent patients due to herpes simplex virus type 1 or 2 as determined by type-specific polymerase chain reaction and antibody assays of cerebrospinal fluid, J. Med. Virol. 39:179-186 (1993).

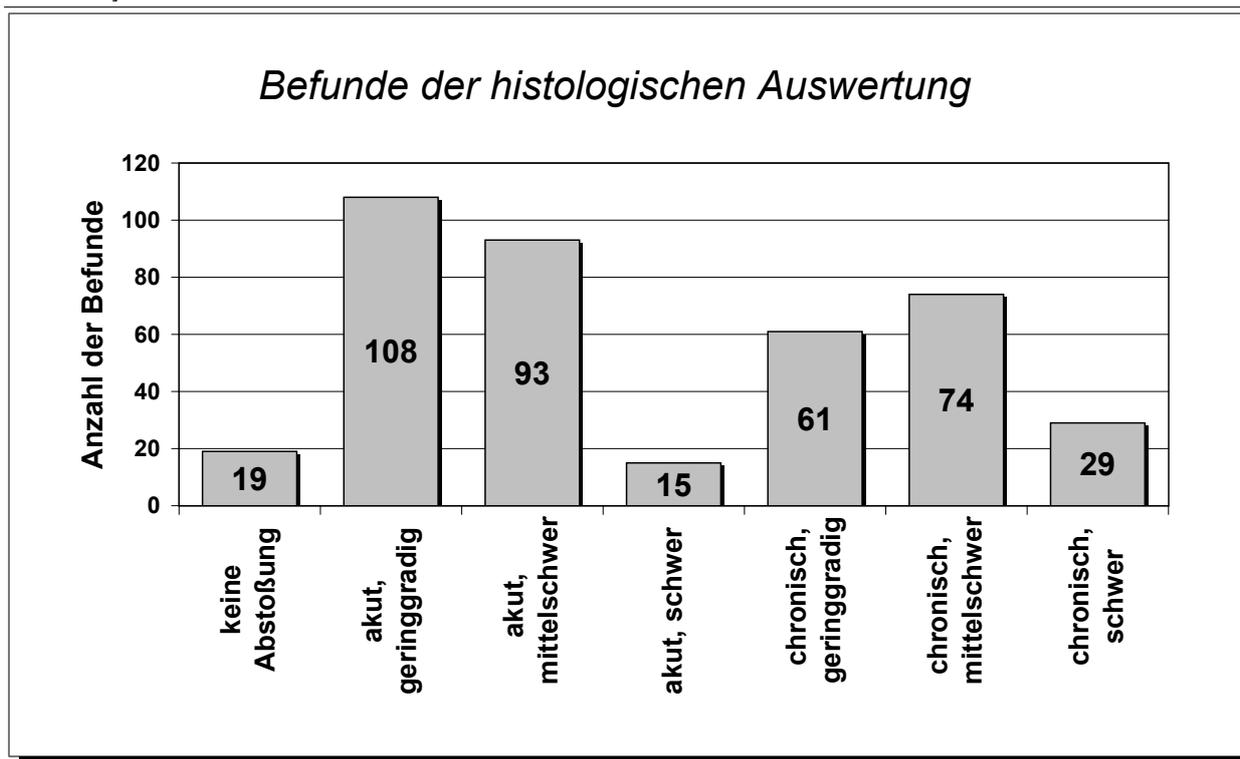
## 3 Ergebnisse

### 3.1 Morphologische Parameter und ihre Beziehungen zueinander

#### 3.1.1 Interstitielle Abstoßungsreaktion

Von den histologisch ausgewerteten Biopsien und Explantaten, zeigten sich bei 19 Erstbiopsien, obwohl klinisch der Verdacht bestand, keine Veränderungen im Sinne einer Abstoßungsreaktion. Dabei handelte es sich um Erstbiopsien von Patienten, die im weiteren Verlauf eine unterschiedlich schwere Abstoßungsreaktion entwickelten. In 108 Biopsien ließ sich eine geringgradige, in 93 Biopsien eine mittelschwere und in 15 Biopsien eine schwere akute Abstoßungsreaktion beobachten. Bei 61 Präparaten zeigten sich Veränderungen in Form einer geringgradigen, bei 74 Präparaten einer mittelschweren und bei 29 Präparaten einer schweren chronischen Abstoßungsreaktion (Abbildung 7, Seite 25).

**Abbildung 7: Übersicht der histologischen Befunde** - Einteilung in keine, akute und chronische Abstoßung. Graduierung erfolgte nach den geschilderten Definitionen [Absatz 2.2, Seite 11]



#### 3.1.2 Vaskuläre Abstoßung, Transplantatvaskulopathie (VAR)

Bei der morphologischen Auswertung aller Biopsien und Explantate konnte bei insgesamt 93 (23,3 %) der 399 untersuchten Präparate eine vaskuläre Abstoßungsreaktion diagnostiziert.

Da es sich bei dieser Analyse um eine rein morphologische, d.h. nicht patientenbezogene Auswertung handelte, wurden zum Teil mehrere Biopsien eines Patienten erfaßt.

Wurden die Daten patientenbezogen ausgewertet, d.h. ein Patient wurde dann als positiv gewertet, wenn er in seinem Krankheitsverlauf eine VAR entwickelte, zeigte sich, daß 50 Patienten (46,9 %) innerhalb des Beobachtungszeitraumes eine VAR entwickelten.

### 3.1.3 Glomeruläre Abstoßungsreaktion, Transplantatglomerulopathie (TGP)

Auch bei der Analyse der TGP wurde analog zur Auswertung einer VAR die Untersuchung zuerst präparatebezogen durchgeführt, d.h. die Biopsien und Explantate wurden unabhängig vom Patienten einzeln gewertet. Histologisch konnte dabei in 81 (20,3 %) der insgesamt 399 Präparate eine TGP ermittelt werden.

Bei der patientenorientierten Auswertung der Präparate, d.h. ein Patient wurde dann als positiv gewertet wenn zumindest in einem Präparat eine TGP diagnostiziert werden konnte, wurde deutlich, daß 40 (36,7 %) der 109 Patienten innerhalb des Beobachtungszeitraumes eine TGP entwickelten.

Bei 27 Patienten wurde ein paralleles Auftreten einer VAR mit einer TGP, bzw. die Entwicklung einer TGP nach Diagnose einer VAR im weiteren Verlauf, gesehen.

### 3.1.4 Plasmazellreiche interstitielle Abstoßungsreaktion

**Tabelle 8: Morphologische Analyse der Plasmazellinfiltrate** - Relation zwischen Lokalisation und Quantität (Prozentualer Anteil der Plasmazellinfiltrate)

Quantität	<i>peritubulär</i>	<i>perivaskulär</i>	<i>periglomerulär</i>	
Gruppe I - komplett	35,4 %	27,0 %	37,6 %	100 %
[+]	38,1 %	24,4 %	37,5 %	100 %
[++]	29,7 %	45,8 %	24,5 %	100 %
[+++]	38,1 %	10,8 %	51,1 %	100 %

Im Gesamtkollektiv konnte in 58 Präparaten (14,6 %) ein Plasmazellreichtum gesehen werden. Im Kollektiv der Patienten mit plasmazellreichen Abstoßungsreaktionen (Gruppe I) wurde prozentual ein Anteil an Plasmazellen von 30,4 % an den gesamten interstitiellen Infiltraten beobachtet. In der Gruppe nicht-plasmazellreicher Fälle (Gruppe II) lag der prozentuale Anteil der Plasmazellen in Relation zu den gesamten Infiltraten bei durchschnittlich 4,6 %.

Bei der morphologischen Auswertung des plasmazellreichen Kollektives (Gruppe I) wurde

deutlich, daß die Infiltrate zumeist in Zellnester (Clustern) gruppiert waren und mit steigender Quantität hinsichtlich der Lokalisation gehäuft perivaskulär und periglomerulär auftreten (Abbildung 16, Seite 34).

So zeigte sich bei detaillierter Auswertung der Quantität plasmazellreicher Infiltrate bei Biopsien mit mäßig vielen [+] Infiltraten eine fast homogene Verteilung der Plasmazellen peritubulär (38,1 %) und periglomerulär (37,5 %). Werden hingegen die Biopsien mit steigender Quantität [++] betrachtet, so wurde deutlich, daß die Infiltrate primär perivaskulär (45,8 %); bei Biopsien mit zahlreichen [+++] Plasmazellinfiltraten vornehmlich periglomerulär (51,1 %) lokalisiert sind (Tabelle 8, Seite 26).

### 3.1.5 Korrelation zwischen Plasmazellen und VAR/TGP

Bei der Korrelation plasmazellreicher Infiltrate mit anderen morphologischen Befunden wurde deutlich, daß im Gesamtkollektiv plasmazellreiche Infiltrate in Kombination mit einer VAR/TGP in 46,9 % der Fälle auftreten. Im Vergleich dazu trat in der Gruppe mit Plasmazellreichtum (Gruppe I) vs. der nicht-plasmazellreichen Gruppe (Gruppe II) eine VAR ± TGP mit 58,5 % vs. 41,7 % signifikant häufiger auf [Chi<sup>2</sup> p=0,0044] (Tabelle 9, Seite 27).

**Tabelle 9: Entwicklung einer vaskulären Abstoßungsreaktion / Transplantatglomerulopathie - Betrachtung der einzelnen Kollektive**

Morphologischer Befund	<i>Gesamtkollektiv</i>	<i>Gruppe I</i>	<i>Gruppe II</i>
ohne VAR/TGP	53,1 %	41,5 %	58,3 %
mit VAR/TGP	46,9 %	58,5 %	41,7 %

**3.2 Morphometrie****Tabelle 10: Morphometrie** - Prozentuale Verteilung der Zellpopulationen im Gesamtkollektiv, bei akuten und chronischen interstitiellen Abstoßungsreaktionen (Gruppe I und II) sowie in den einzelnen Unterkollektiven

<i>Koll.</i>	<i>CD4<sup>+</sup>-Lymph.</i>	<i>CD8<sup>+</sup>-Lymph.</i>	<i>B-Lymph.</i>	<i>Makroph.</i>	<i>Plasmaz.</i>
<i>Gesamtkollektiv</i>					
I+II	4,52 %	31,33%	25,38 %	21,89%	16,92%
<i>akut</i>					
Ia+IIa	2,36 %	30,50%	23,75 %	26,99%	16,43%
<i>chronisch</i>					
Ib+IIb	6,67 %	32,15 %	27,01 %	16,78 %	17,41 %
<i>plasmazellreich</i>					
I	2,34 %	29,85 %	26,8 %	11,42 %	29,6 %
Ia	0,47 %	39,24 %	23,92 %	7,41 %	28,96 %
Ib	4,21 %	20,45 %	29,68 %	15,43 %	30,23 %
<i>nicht-plasmazellreich</i>					
II	6,68 %	32,80 %	23,96 %	32,35 %	4,24 %
IIa	4,24 %	21,75 %	23,57 %	46,56 %	3,89 %
IIb	9,12 %	43,84 %	24,34 %	18,13 %	4,59 %

Bei der Analyse der Qualität und Quantität der untersuchten Zellpopulationen (CD4<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup>-T-Lymphozyten, B-Lymphozyten, Makrophagen und Plasmazellen), (Tabelle 10, Seite 28) wurde deutlich, daß CD8<sup>+</sup>-T-Lymphozyten im Gesamtkollektiv mit 31,33 % sowie bei akuten (Gruppe Ia+IIa) mit 30,50 % und chronischen Abstoßungsreaktionen (Gruppe Ib+IIb) mit 32,15 % die Hauptfraktion unter den Infiltraten darstellen.

Bei nicht-plasmazellreichen akuten Abstoßungsprozessen (Gruppe IIa) dominieren Makrophagen mit 46,56 % der Infiltrate das zelluläre Bild, wobei hingegen das morphologische Bild bei nicht-plasmazellreichen chronischen Abstoßungsprozessen (Gruppe IIb) mit 43,84 % durch CD8<sup>+</sup>-T-Lymphozyten bestimmt wird. B-Lymphozyten machen sowohl bei akuten als auch chronischen nicht-plasmazellreichen Abstoßungsprozessen rund 25 % der Infiltrate aus.

Bei den plasmazellreichen Abstoßungsreaktionen (Gruppe Ia, Ib) finden sich neben einem

hohen Anteil von Plasmazellen mit 28,96 % (akut, plasmazellreich) bzw. 30,23 % (chronisch, plasmazellreich) vor allem CD8<sup>+</sup>-T-Lymphozyten mit 39,24 % (akut, plasmazellreich) bzw. 20,45 % (chronisch, plasmazellreich) und B-Lymphozyten mit 23,92 % (akut, plasmazellreich) bzw. 29,68 % (chronisch, plasmazellreich). Makrophagen und CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten sind in nur geringer Anzahl nachzuweisen (0,47 %, 7,41 % im akut, plasmazellreichen Kollektiv bzw. 4,21 %, 15,43 % im chronisch, plasmazellreichen Kollektiv).

CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten sind in allen Kollektiven mit einem Anteil von 0,47 % bis maximal 9,12 % nur in geringer Anzahl vorhanden. Die prozentuale Quantität der infiltrierten B-Lymphozyten ist in allen Unterkollektiven relativ konstant, morphologisch erschienen die Infiltrate durchweg fokal lokalisiert.

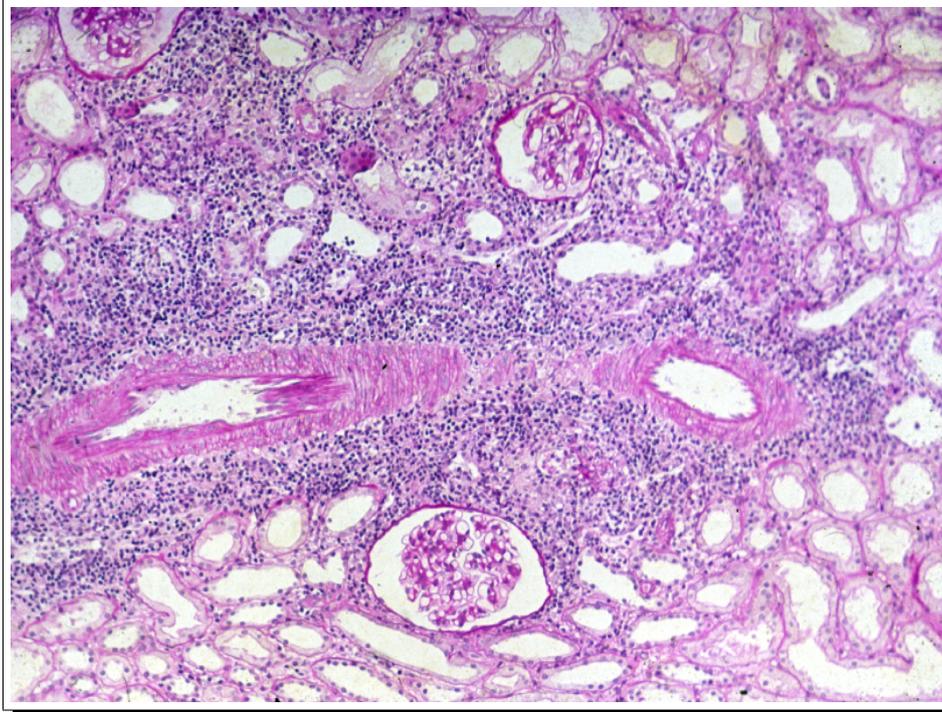
Zur Analyse der sezernierten Immunglobuline (IgG, IgA, IgM) wurden die Gesamtanzahl der Plasmazellen ermittelt und prozentual ausgewertet. In den beiden plasmazellreichen Unter-

**Tabelle 11: Morphometrie** - Prozentualer Anteil der Plasmazellen in Bezug auf die sezernierten Immunglobuline (IgG, IgA, IgM)

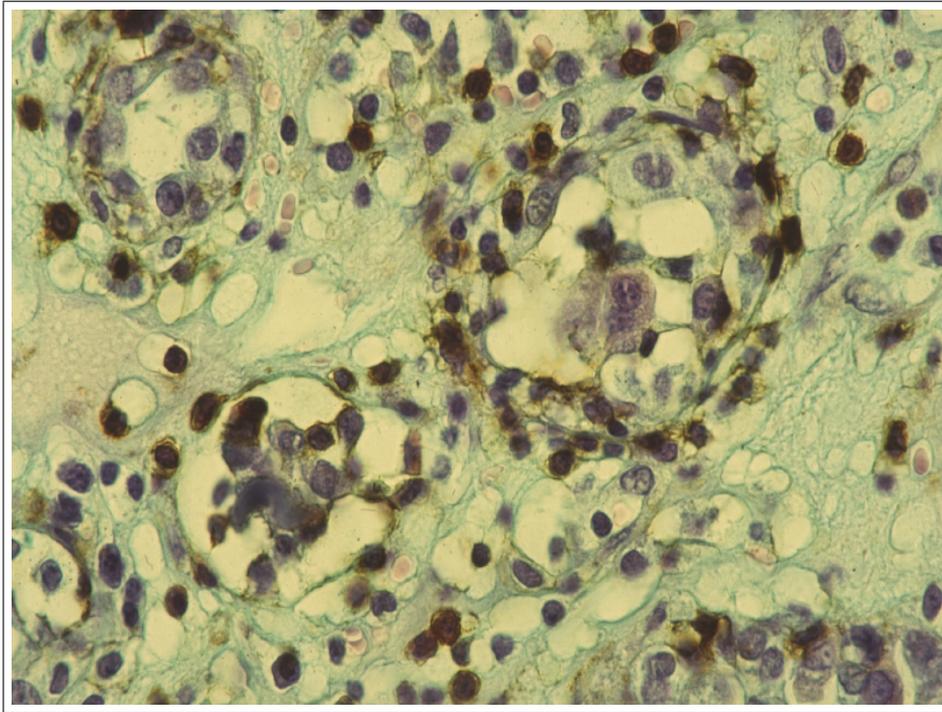
<i>Kollektiv</i>	<i>IgG</i>	<i>IgA</i>	<i>IgM</i>	
Ia	54,3 %	0 %	45,7 %	100 %
Ib	65,5 %	11,5 %	23 %	100 %
IIa	50 %	50 %	0 %	100 %
IIb	100 %	0 %	0 %	100 %

kollektiven (Gruppe Ia, Ib) sezernierten über die Hälfte der Plasmazellen IgG (Gruppe Ia - 54,3 %, Gruppe Ib - 65,5 %) und einige IgM (Gruppe Ia - 45,7 %, Gruppe Ib - 23 %) (Tabelle 11, Seite 29). In allen untersuchten plasmazellreichen Präparaten handelte es sich um polyklonale, sowohl  $\lambda$ - als auch  $\kappa$ -Fragmente sezernierende, Plasmazellinfiltrate. Die Auswertung in den nicht-plasmazellreichen Kollektiven (Gruppe IIa/b) ist aufgrund der geringen Anzahl der Plasmazellen nicht aussagekräftig.

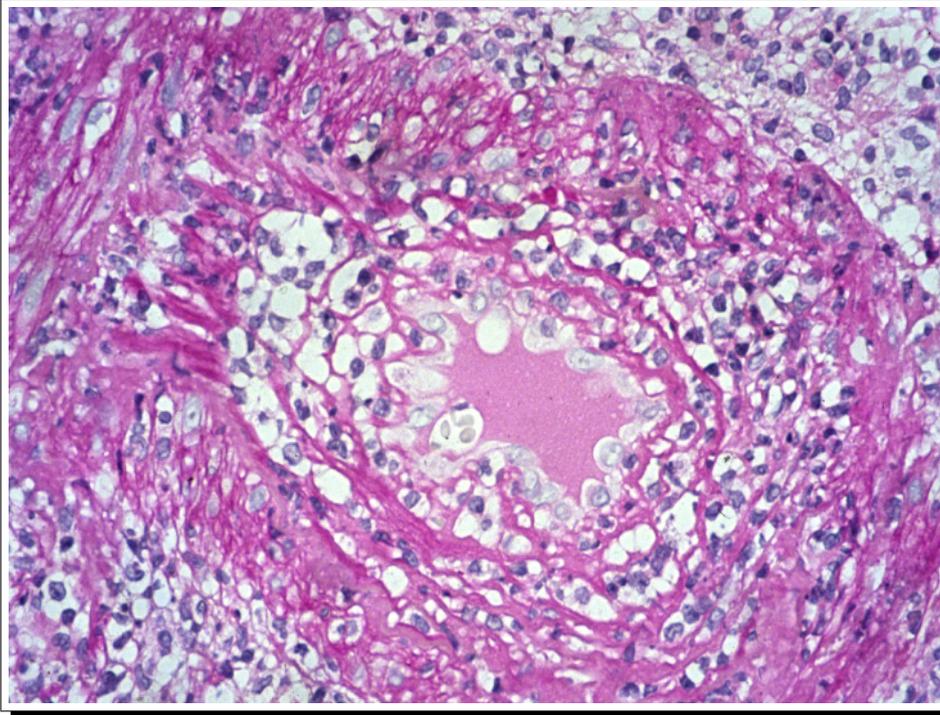
**Abbildung 8: Akute interstitielle Abstoßungsreaktion** - Das Interstitium ist überwiegend von Lymphozyten durchsetzt, PAS-Reaktion



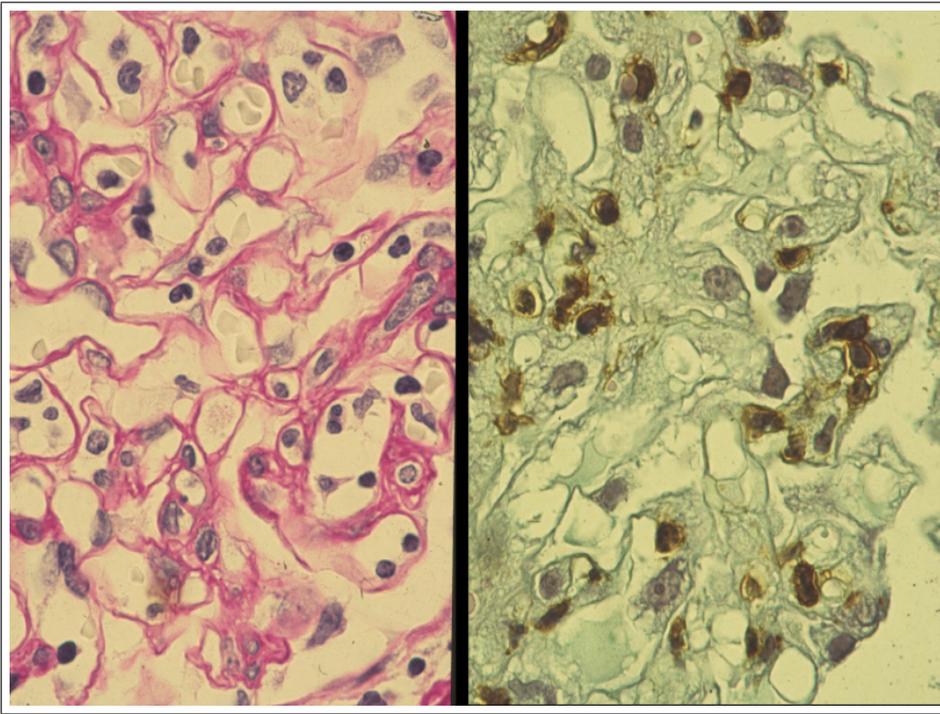
**Abbildung 9: Akute interstitielle Abstoßungsreaktion, Tubulitis** - Eingewanderte Lymphozyten mit Destruktion der Tubulusepithelien, Immunhistologie: PAP-Reaktion



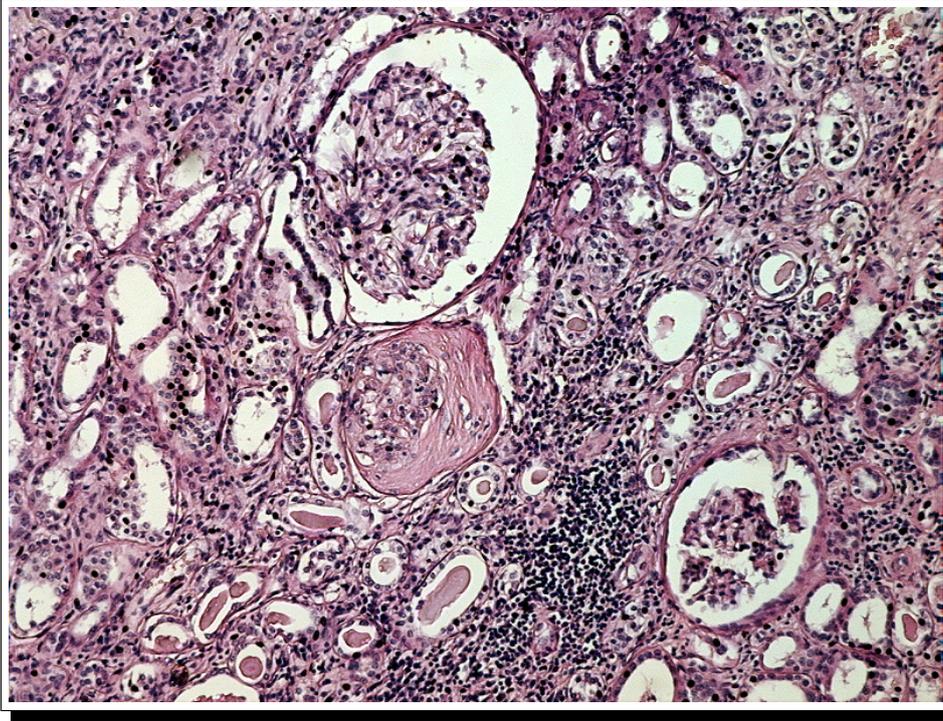
**Abbildung 10: Akute vaskuläre Abstoßungsreaktion** - Bild einer transmuralen Arteriitis, Lichtmikroskopie: PAS-Reaktion



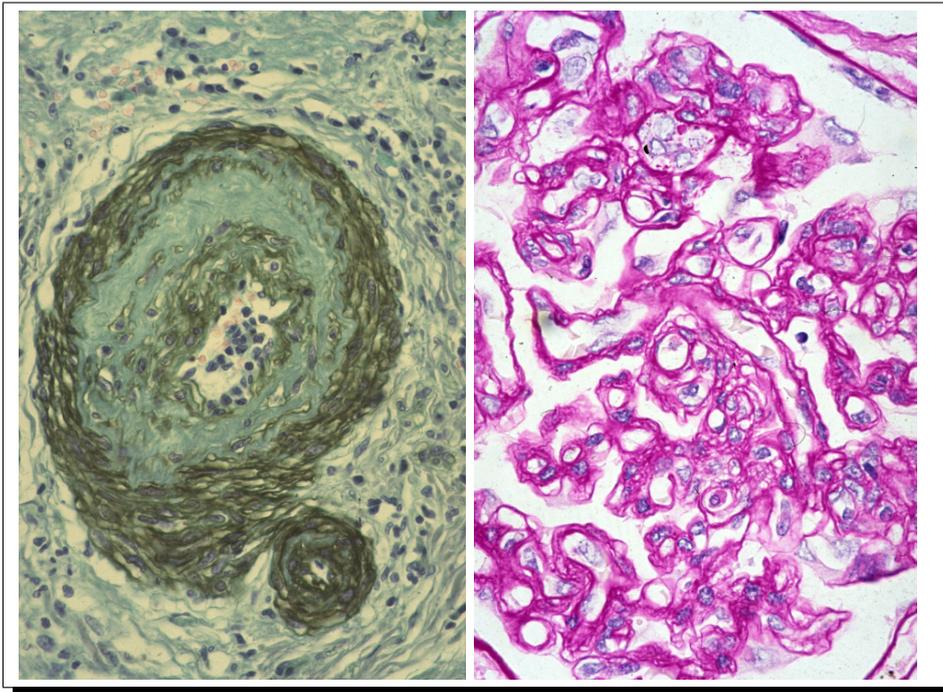
**Abbildung 11: links - Transplantatglomerulopathie**, akutes Stadium (Frühstadium) mit Endotheldestruktion und eingewanderten Rundzellen (Makrophagen und Lymphozyten), PAS-Reaktion; **rechts - Nachweis von T-Lymphozyten**, Immunhistologie; PAP-Methode



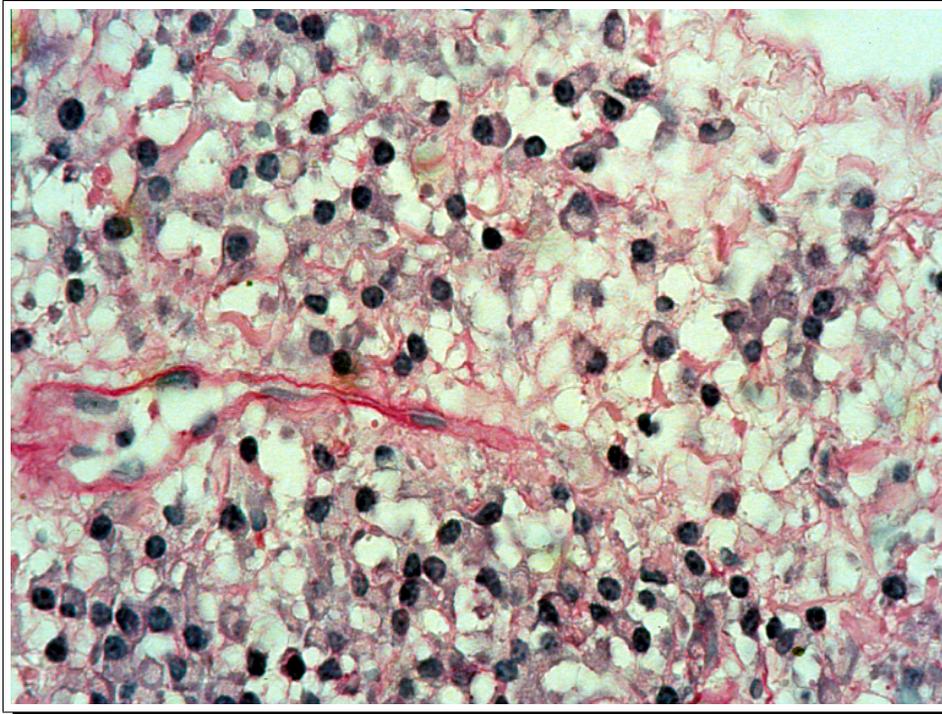
**Abbildung 12: Chronisch interstitielle Abstoßungsreaktion** - interstitielle Fibrose mit interstitiellen Infiltraten und Tubulusatrophie, PAS-Reaktion



**Abbildung 13: links - Chronisch vaskuläre Abstoßungsreaktion**, konzentrische Verdickung der Intima mit Stenosierung, Lamininfärbung **rechts - Chronische Transplantatglomerulopathie**, Basalmembranneubildungsprozesse im subendothelialen Bereich, Phänomen der Doppelkonturierung, PAS-Reaktion



**Abbildung 14: Akute plasmazellreiche interstitielle Abstoßungsreaktion** - Das Interstitium ist von Plasmazellen durchsetzt, PAS-Reaktion



**Abbildung 15: Akute plasmazellreiche Abstoßungsreaktion** - Perivaskuläre Lokalisation der Plasmazellinfiltrate bei zusätzlicher vaskulärer Abstoßung, PAS-Reaktion

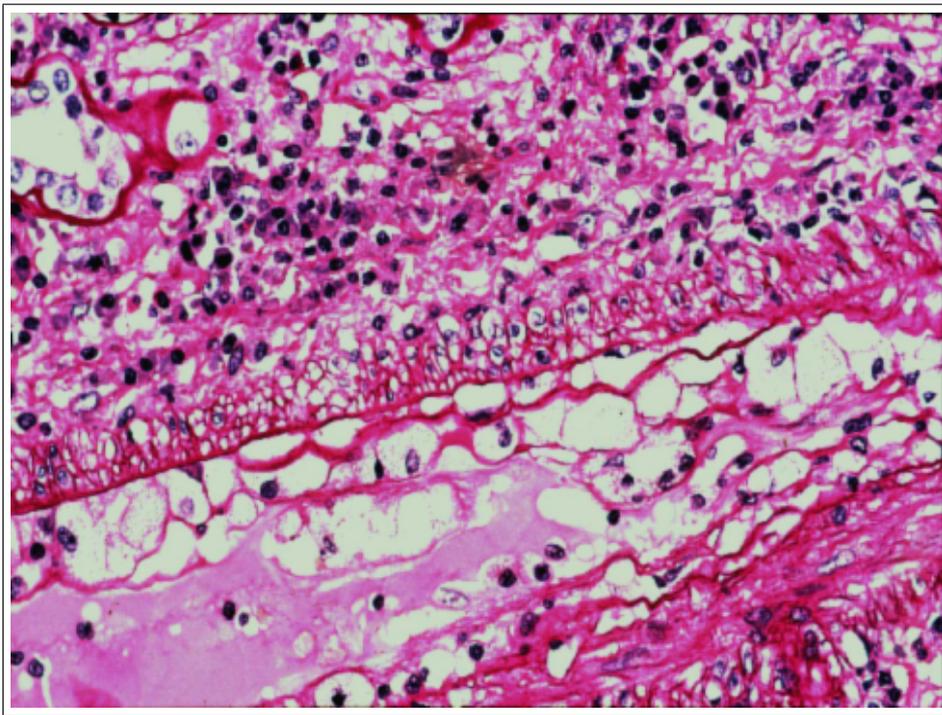


Abbildung 16: Akute plasmazellreiche interstitielle Abstoßungsreaktion - Plasmazellen in periglomerulärer Lokalisation, PAP-Reaktion

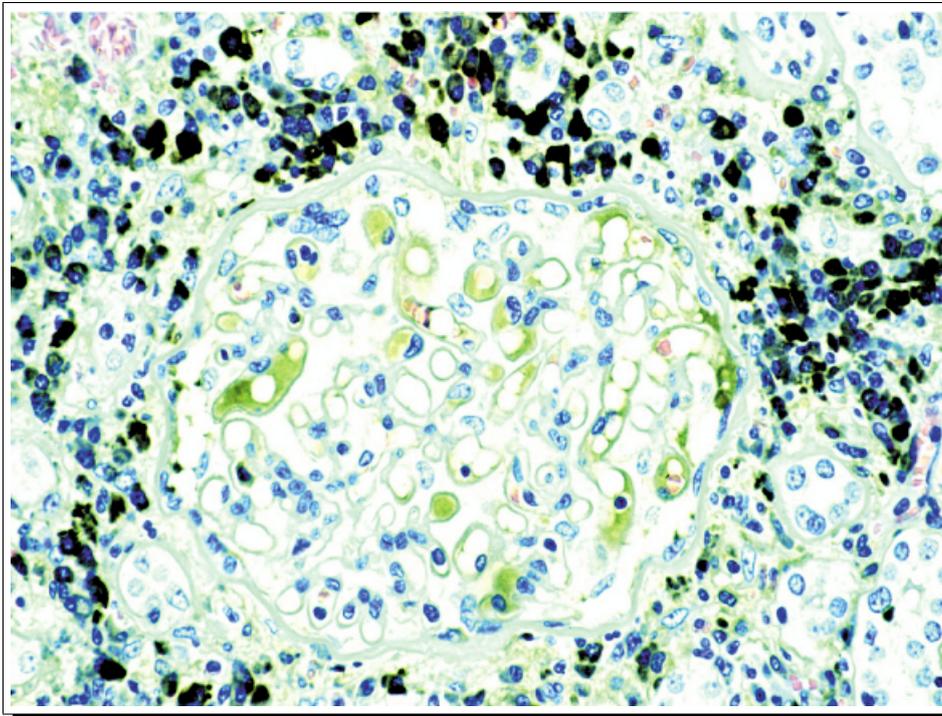
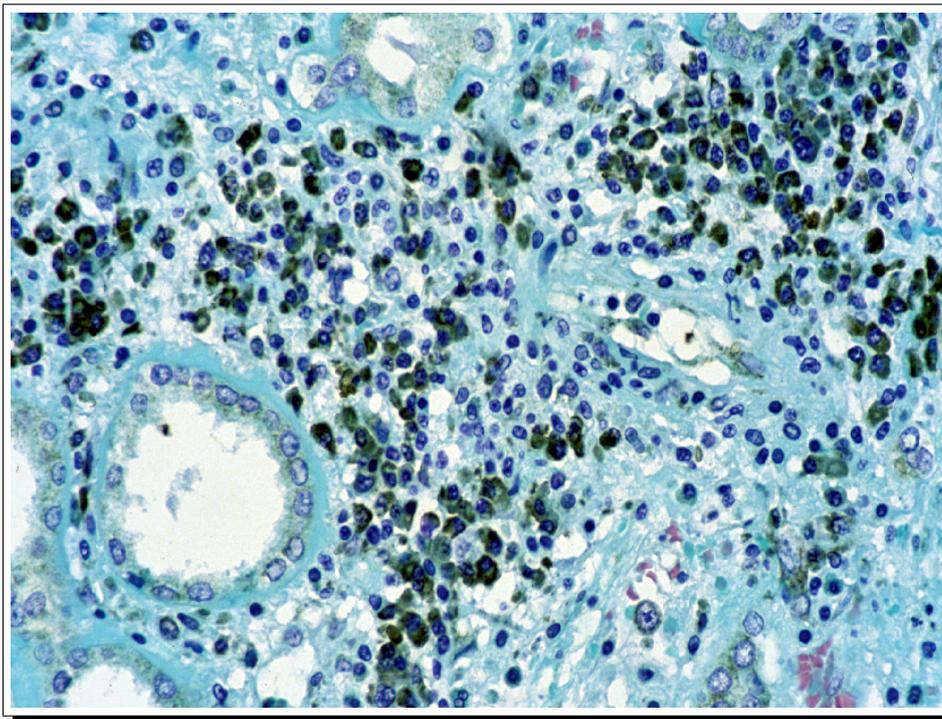
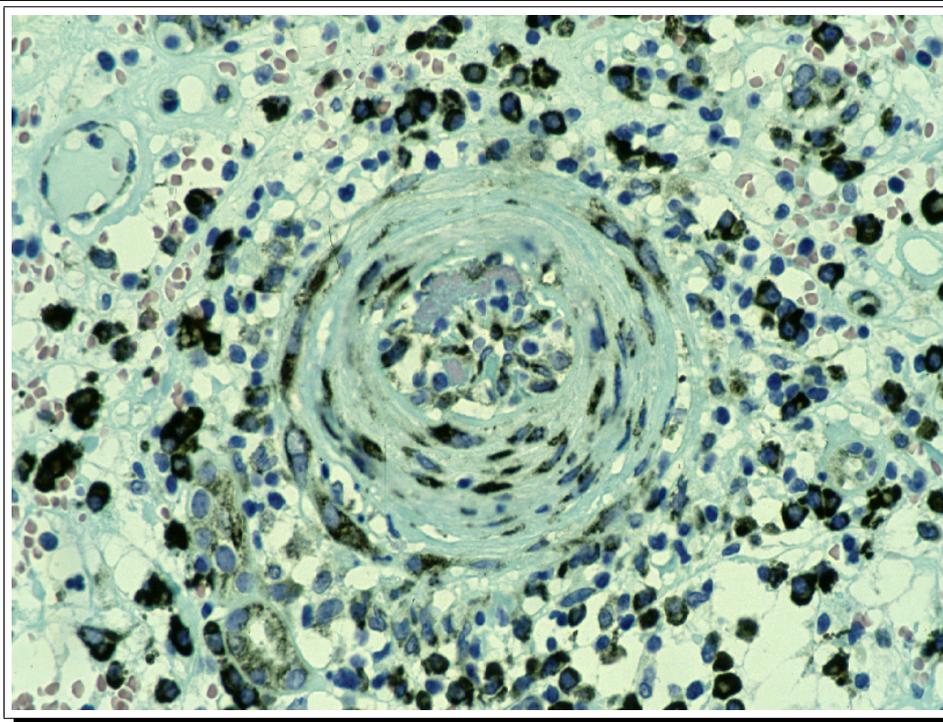


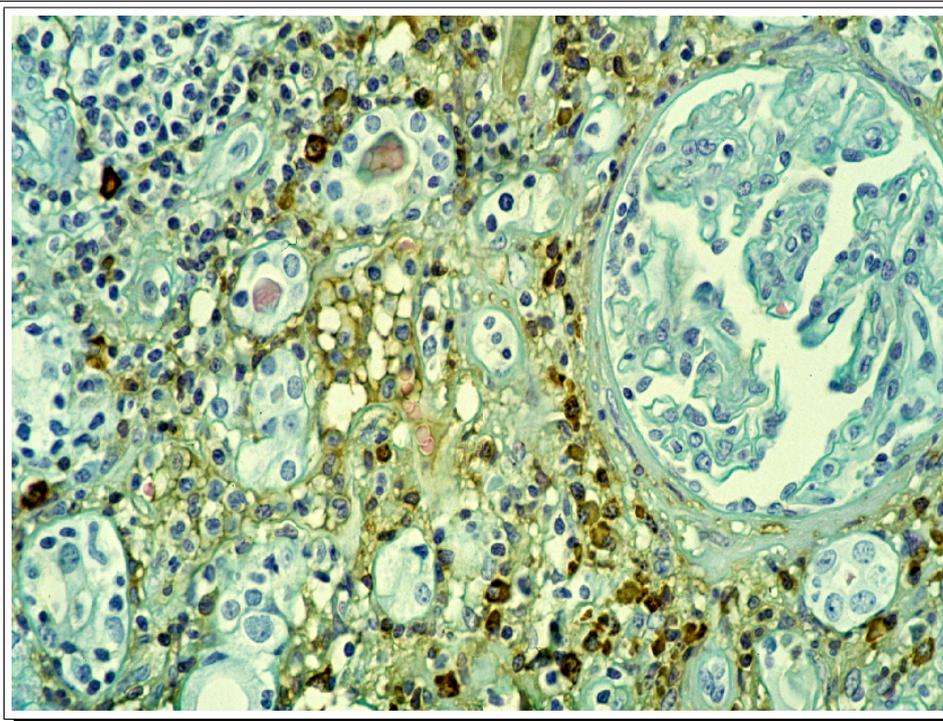
Abbildung 17: Chronische plasmazellreiche interstitielle Abstoßungsreaktion - Fibrotisch verändertes Interstitium mit plasmazellreichen Infiltraten, PAP-Reaktion



**Abbildung 18: Chronische plasmazellreiche Abstoßungsreaktion** - Perivaskuläre Lokalisation der Plasmazellinfiltrate bei zusätzlicher vaskulärer Abstoßungsreaktion, Immunhistologie



**Abbildung 19: Chronische plasmazellreiche interstitielle Abstoßungsreaktion** - Interstitielle Fibrose mit plasmazellreichen Infiltraten, teils periglomerulär lokalisiert zusätzlich Zeichen einer chronischen Transplantatglomerulopathie, PAP-Reaktion



### 3.3 Molekularbiologie

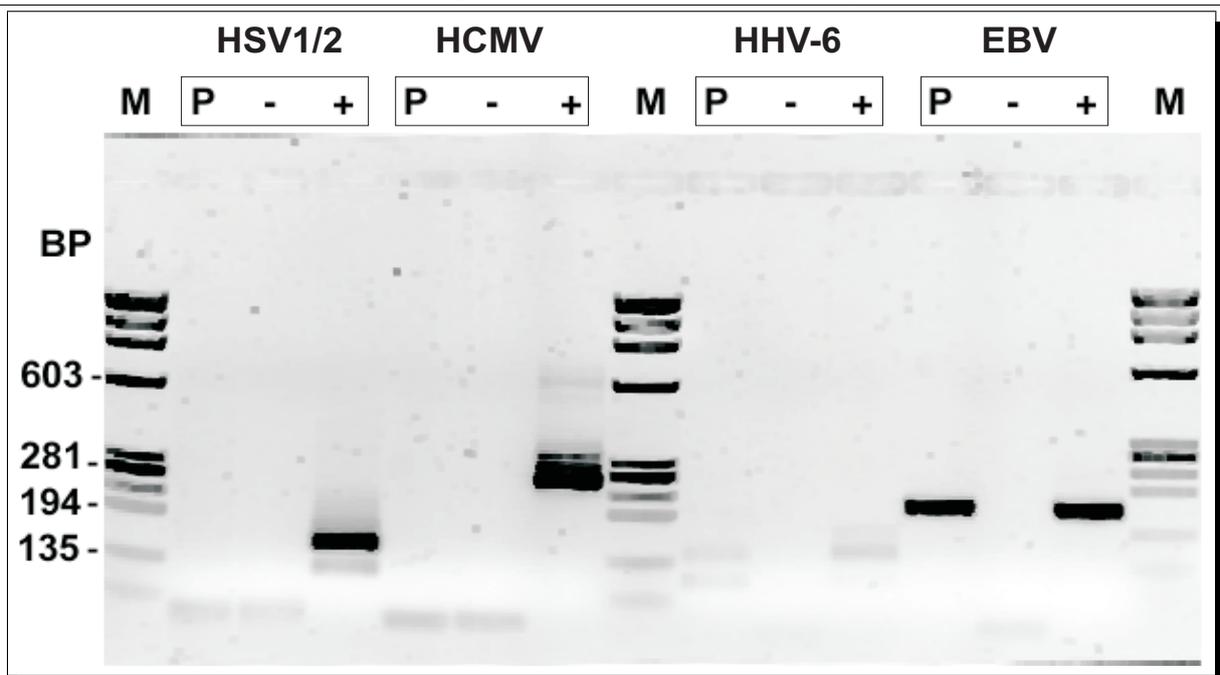
Zum Nachweis der Herpes-Virus-Genome wurden von jedem Unterkollektiv (Gruppe Ia, Ib, IIa, IIb) zufällig ausgewählte Biopsien mittels nested PCR untersucht. Dabei zeigte sich, daß sowohl für HSV-1, HSV-2 und auch für CMV keine der ausgewählten Biopsien für Herpes-Viren-Kopien positiv gewertet werden konnte. In jedem Unterkollektiv hingegen EBV und HHV-6-Virus-DNA nachgewiesen werden, ohne daß jedoch die Anzahl der positiven und negativen Fälle als signifikant different gewertet werden konnte (Tabelle 12, Seite 36).

**Tabelle 12: Herpes-Viren, Übersicht** - Nachweis von Herpes-Virus-DNA in den Unterkollektiven: positive Fälle / untersuchte Fälle

Kollektiv	HSV-1	HSV-2	CMV	HHV-6	EBV
Ia	0/5	0/5	0/8	2/5	2/9
Ib	0/12	0/12	0/12	3/12	4/15
IIa	0/4	0/4	0/5	2/4	2/7
IIb	0/8	0/8	0/8	4/8	4/8

Kein Patient mit verifiziertem EBV-Nachweis entwickelte innerhalb des Beobachtungszeitraumes eine lymphoproliferative Neoplasie. Die Abbildung 20, Seite 36 zeigt beispielhaft positive und negative Fälle von Herpes-Virus-DNA (HSV1, HSV2, HHV6, EBV).

**Abbildung 20: Herpes-Viren** - positive und negative Proben von Herpes-Viren-DNA. P (Probe) repräsentiert das jeweilige Fallbeispiel,  $\ominus$  die Negativkontrolle,  $\oplus$  die entsprechende Positivkontrolle, M stellt den Längenmarker ( $\phi$ X DNA, HaeIII) dar.



### 3.4 Transplantatüberlebensprognose - univariate Analyse in Relation zu verschiedenen morphologischen und klinischen Parametern

#### 3.4.1 Gesamtkollektiv

Das untersuchte Gesamtkollektiv wurde durchschnittlich über einen Zeitraum von  $x=52,18 \pm 38,40$  Monaten (min.: 1 Monat, max.: 150 Monate) zwischen dem Transplantationstermin und dem Transplantatfunktionsverlust bzw. dem Datum der letzten vorliegenden Biopsie beobachtet.

Von den 109 untersuchten Patienten hatten am Ende des Beobachtungszeitraumes [Stichtag: 01.01.1998] 35 Patienten (32,1 %) ein funktionierendes Transplantat, 70 Patienten (64,2 %) mußten wieder dialysiert werden (Kaplan-Maier-Kurve für das Transplantatüberleben, Abbildung 21, Seite 37). In 4 Fällen ließ sich der Status der Transplantatfunktion zum Zeitpunkt des Untersuchungsendes aufgrund mangelnder Datenlage nicht erheben.

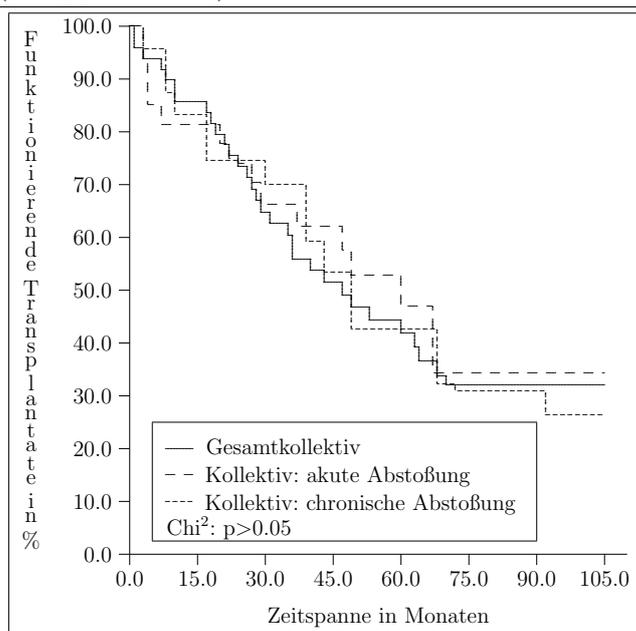
#### 3.4.2 Morphologische Parameter

##### 3.4.2.1 Interstitielle Abstoßungsreaktionen

###### 3.4.2.1.1 Akute und chronische IAR

Beim Vergleich des Gesamtkollektives mit den Unterkollektiven bestehend aus Fällen akuter (Gruppe Ia+IIa) und chronischer (Gruppe Ib+IIb) Abstoßungsreaktionen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Transplantatüberlebensrate [ $\text{Chi}^2: p>0.05$ ] (Abbildung 21, Seite 37).

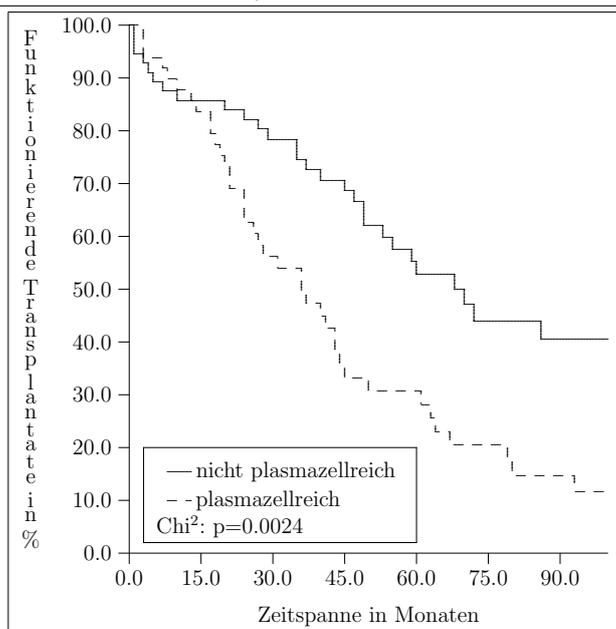
**Abbildung 21: Transplantatüberlebensrate** - Vergleich zwischen dem Gesamtkollektiv sowie der Kollektive mit akuter interstitieller (Gruppe Ia+IIa) und chronischer interstitieller Abstoßungsreaktion (Gruppe Ib+IIb)



### 3.4.2.2 Plasmazellreiche Abstoßungsreaktionen

Wie die Analyse der Transplantatüberlebensprognose verdeutlicht, haben Patienten mit plasmazellreichen Abstoßungsreaktionen eine signifikant schlechtere Prognose als Patienten ohne plasmazellreiche Abstoßungsreaktionen (Abbildung 22, Seite 38) [ $\text{Chi}^2$ :  $p=0.0024$ ].

**Abbildung 22: Transplantatüberlebensrate - Vergleich der Fälle mit und ohne Plasmazellreichtum (Gruppe I vs. Gruppe II)**



#### 3.4.2.2.1 Akute, plasmazellreiche Abstoßungsreaktionen

Beim Vergleich plasmazellreicher akuter Abstoßungsreaktionen mit akuten nicht-plasmazellreichen Abstoßungsprozessen (Gruppe Ia vs. IIa) konnte keine signifikante Differenz in der Transplantatüberlebensprognose ermittelt werden (Abbildung 23, Seite 39) [ $\text{Chi}^2$ :  $p=0.5636$ ]. Auch gelangen Patienten mit akuten plasmazellreichen Abstoßungsreaktionen nicht signifikant früher in die Phase der chronischen Abstoßung [ $\text{Chi}^2$ :  $p=0.5526$ ].

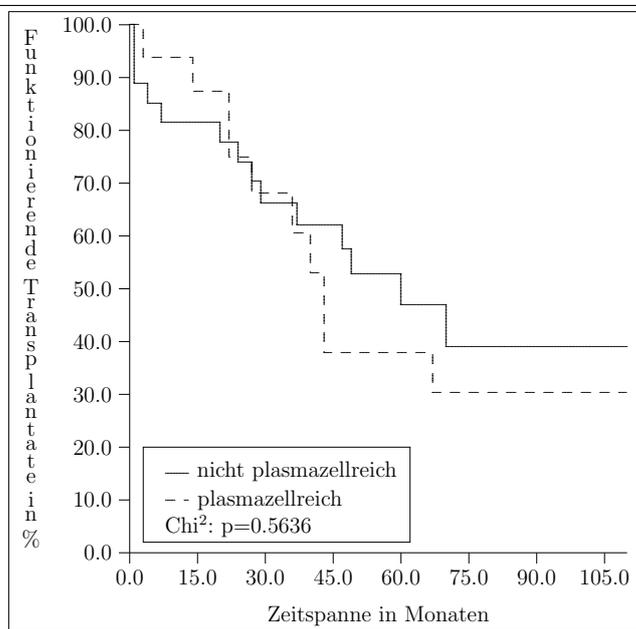
#### 3.4.2.2.2 Chronische, plasmazellreiche Abstoßungsreaktionen

Werden chronisch plasmazellreiche mit chronisch nicht-plasmazellreichen Abstoßungsprozessen (Gruppe Ib vs. IIb) verglichen, so zeigt sich, daß Patienten mit Plasmazellreichtum eine signifikant schlechtere Transplantatüberlebensprognose haben (Abbildung 24, Seite 40) [ $\text{Chi}^2$ :  $p=0.0148$ ].

#### 3.4.2.2.3 Vasculäre Abstoßungsreaktionen (VAR)

Im Beobachtungszeitraum traten bei 46 % aller Patienten histologische Veränderungen in Form einer VAR auf. Beim Vergleich der Transplantatüberlebensrate für Patienten mit und

**Abbildung 23: Transplantatüberlebensrate** - Vergleich der Prognose zwischen akuten Abstoßungsprozessen mit plasmazellreichen (Gruppe Ia) und nicht-plasmazellreichen (Gruppe IIa) Infiltraten



ohne vaskuläre Abstoßungsprozesse zeigte sich eine signifikant schlechtere Prognose für Patienten mit VAR (Abbildung 25, Seite 40) [ $\text{Chi}^2$ :  $p < 0.0001$ ].

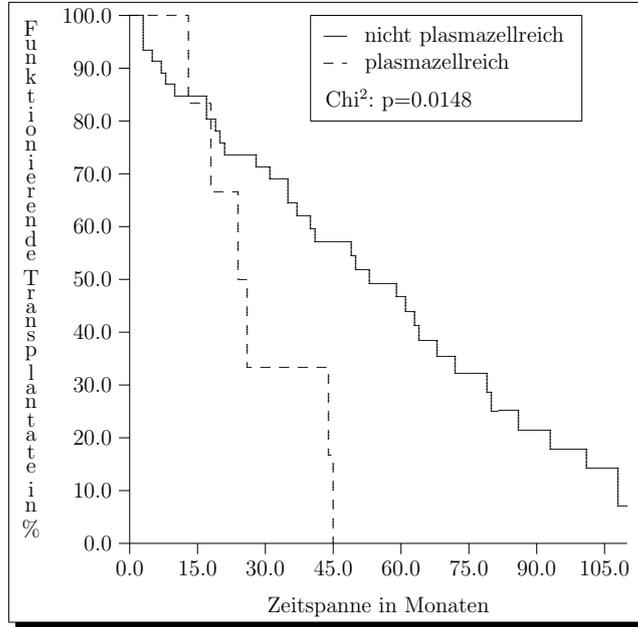
#### 3.4.2.4 Transplantatglomerulopathie (TGP)

Die bei 37,2 % der Patienten im Krankheitsverlauf auftretende TGP hatte ebenfalls einen signifikant negativen Einfluß auf die Transplantatüberlebensprognose (Abbildung 26, Seite 41) [ $\text{Chi}^2$ :  $p = 0.0002$ ].

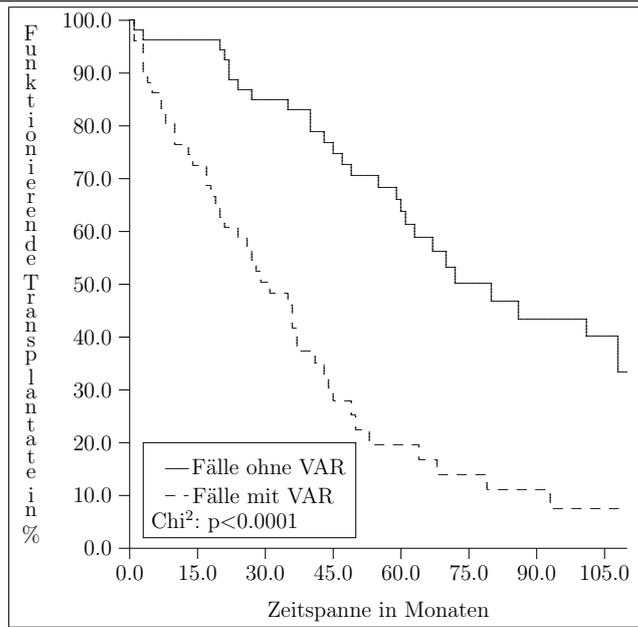
#### 3.4.2.5 Plasmazellreiche Abstoßungsreaktionen und VAR±TGP

Da bei den histologischen Untersuchungen auffallend häufig plasmazellreiche Infiltrate in Kombination mit vaskulären Abstoßungsprozessen beobachtet wurden (Absatz 3.1.2, Seite 25), wurde eine eventuelle prognostische Bedeutung für diese Koexistenz überprüft. Hierfür wurden insgesamt 3 Gruppen gebildet, wobei die Kontrollgruppe aus Fällen bestand, die weder plasmazellreiche Infiltrate noch eine VAR aufwiesen. Die zweite Gruppe bildeten Fälle mit einer VAR, aber ohne Plasmazellreichtum, während die dritte Gruppe aus plasmazellreichen Fällen mit zusätzlicher VAR bestand. Bei der Auswertung wurde deutlich, daß unabhängig vom Plasmazellgehalt die Gruppen mit einer VAR (Gruppe 2 und 3) jeweils eine signifikant schlechtere Prognose im Vergleich zur Kontrollgruppe aufweisen [ $\text{Chi}^2$ :  $p < 0.0001$ ]. Beim direkten Vergleich der Prognose für Patienten mit VAR ± Plasmazellreichtum (Gruppe 2 vs. 3) konnte indessen keine signifikante Differenz nachgewiesen werden (Abbildung 27, Seite 41).

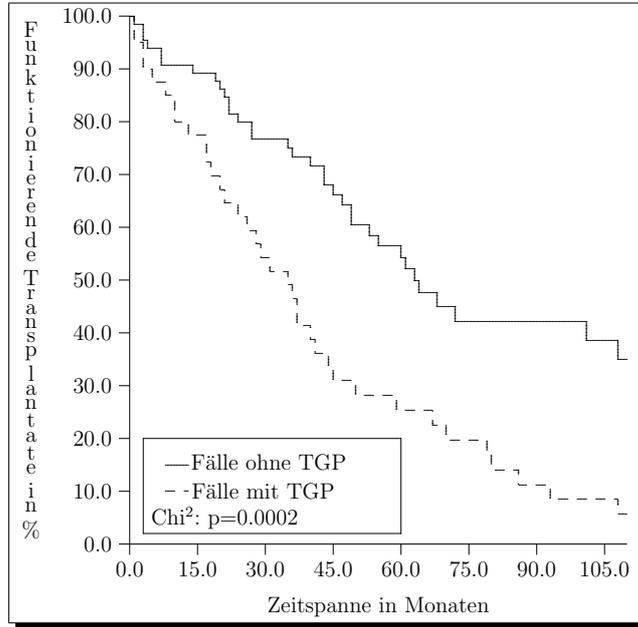
**Abbildung 24: Transplantatüberlebensrate** - Vergleich der Prognose zwischen chronischen Abstoßungsprozessen mit (Gruppe Ib) und ohne (Gruppe IIb) Plasmazellreichtum



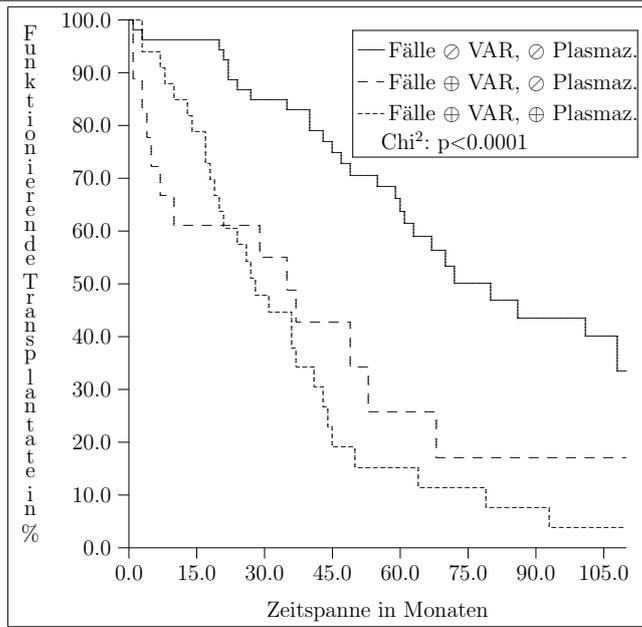
**Abbildung 25: Transplantatüberlebensrate** - Vergleich der Prognose für Patienten mit vaskulären und ohne vaskulären Abstoßungsprozessen



**Abbildung 26: Transplantatüberlebensrate** - Vergleich der Prognose für Patienten mit und ohne Transplantatglomerulopathie



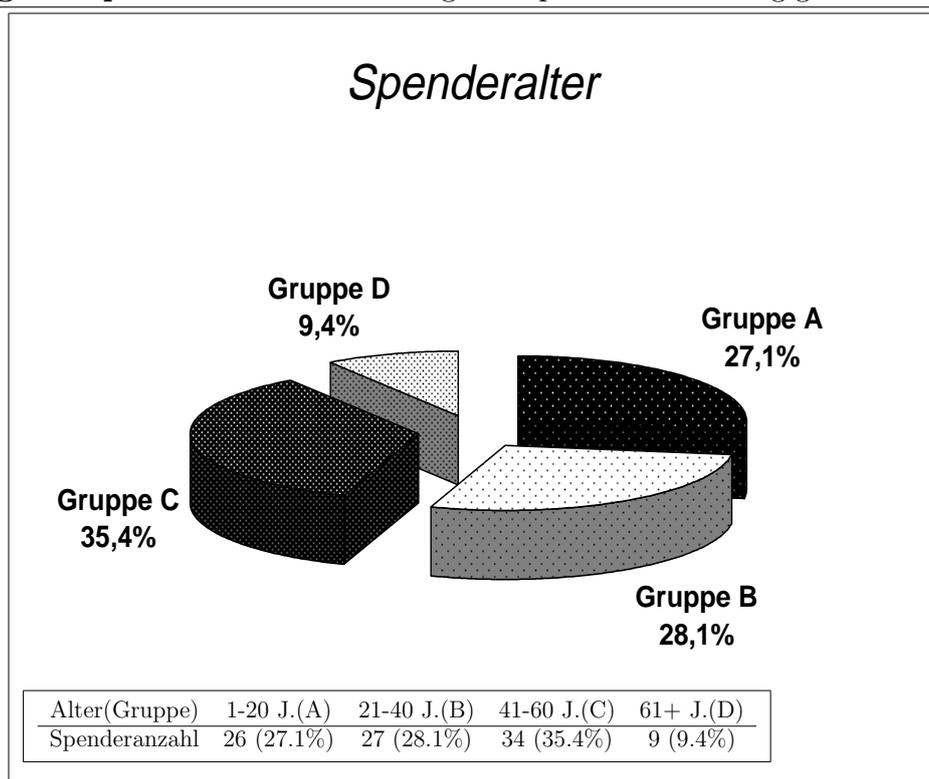
**Abbildung 27: Transplantatüberleben** - Vergleich der Prognose für Patienten mit einer vaskulären Abstoßungsreaktion ± Plasmazellreichtum



**3.4.3 Spenderspezifische Faktoren****3.4.3.1 Spenderalter**

Das durchschnittliche Spenderalter lag zum Zeitpunkt der Organspende bei  $x=37\pm 18$  Jahren (min.: 4 Jahre, max.: 75 Jahre). Um eine Analyse des Spenderalters durchzuführen, wurden die Spender in 4 Altersgruppen eingeteilt, wobei Schritte von 20 Lebensjahren gewählt wurden (Tabelle 28, Seite 42).

**Abbildung 28: Spenderalter** - Einteilung der Spender in Abhängigkeit des Alters



Bei der Auswertung der Transplantatüberlebensprognosen zeigten sich zwischen den einzelnen Altersgruppen keine signifikanten Differenzen [ $\text{Chi}^2$ :  $p=0.53$ ].

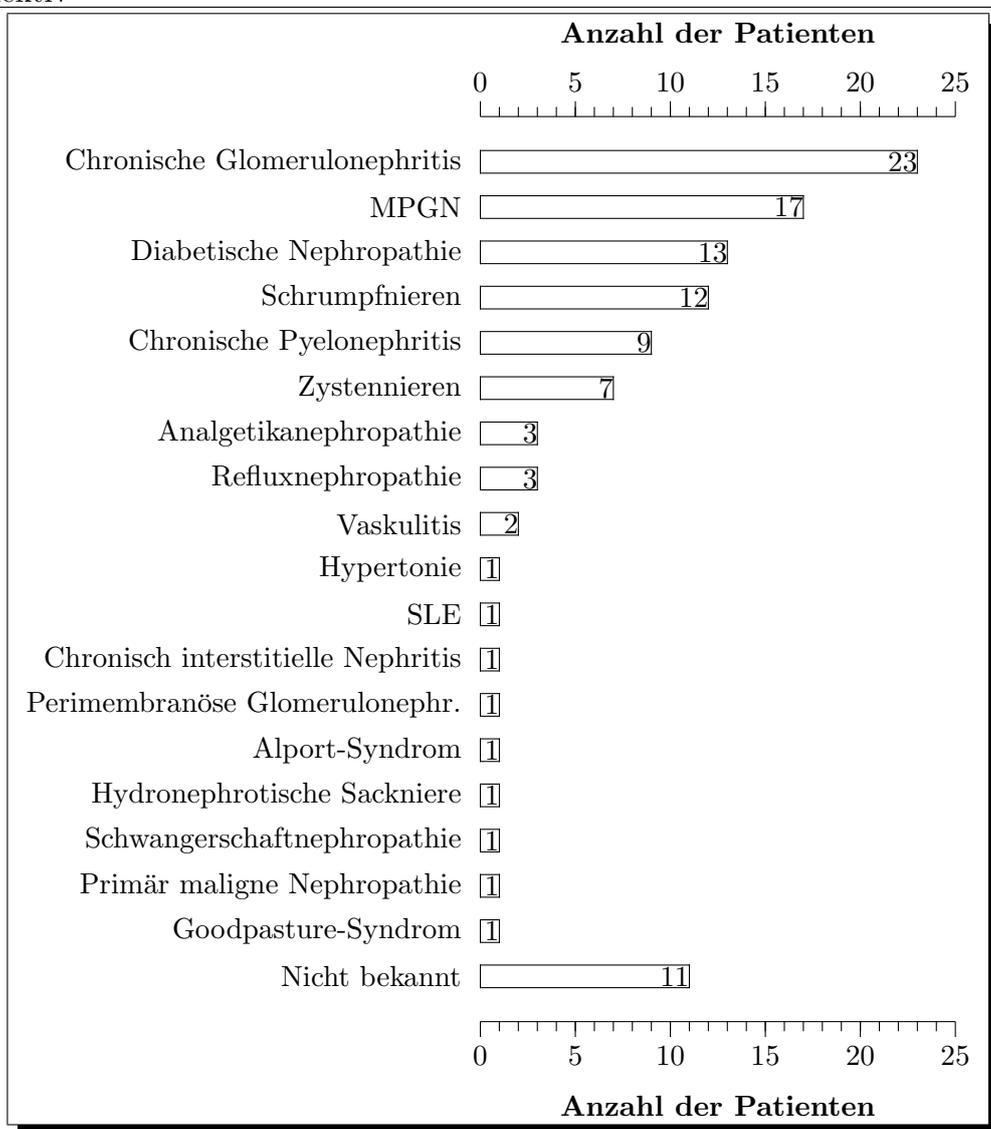
**3.4.3.2 Blutdruck bei NTx**

Der systolische Blutdruck des Spenders lag bei Entnahme des Organs bei durchschnittlich  $118 \pm 14$  mmHg (max.: 160 mmHg, min.: 90 mmHg), der diastolische bei  $73 \pm 11$  mmHg (max.: 100 mmHg, min.: 50 mmHg). Bei der Berechnung der Transplantatüberlebensraten zeigte sich weder für den systolischen Blutdruck (<120mmHg, 120-140mmHg, >140mmHg) noch für den diastolischen Blutdruck (<60mmHg, 60-90mmHg, >90mmHg) signifikante Unterschiede [ $\text{Chi}^2$ :  $p=0.38$ ,  $\text{Chi}^2$ :  $p=0.55$ ].

**3.4.4 Empfängerspezifische Faktoren****3.4.4.1 Grunderkrankung**

Die Diagnose der ursächlichen Niereninsuffizienz wurde oftmals ausschließlich klinisch gestellt, da nur in seltenen Fällen eine Biopsie zur histologischen Diagnostik vorlag. Die häufigste klinische Diagnose war in n=23 Fällen eine chronische Glomerulonephritis, gefolgt von Schrumpfnieren (n=12) und einer chronischen Pyelonephritis (n=9). In Fällen, in denen eine spezifische histologische Diagnose vorlag, wurde eine membranoproliferative Glomerulonephritis mit n=17 Patienten als häufigste Ursache einer chronischen Niereninsuffizienz, gefolgt von einer diabetischen Nephropathie mit n=12 Fällen diagnostiziert. Andere, weniger häufige Grunderkrankungen, sind der Abbildung 29, Seite 43 sowie der Tabelle 13, Seite 44 zu entnehmen.

**Abbildung 29: Grunderkrankungen** - Ursache der terminalen Niereninsuffizienz im Gesamtkollektiv



**Tabelle 13: Ursache der terminalen Niereninsuffizienz** - Grunderkrankung der Patienten in den einzelnen Unterkollektiven und dem Gesamtkollektiv

	Gr. Ia	Gr. Ib	Gr. IIa	Gr. IIb	Gesamt
keine Angabe	3	4	2	2	11
chronische Glomerulonephritis	6	7	5	5	23
MPGN	4	5	3	5	17
Diabetische Nephropathie	2	2	4	5	13
Schrumpfnieren	3	3	3	4	13
chronische Pyelonephritis	1	3	4	1	9
Zystennieren	4	0	2	1	7
Analgetikanephropathie	0	1	1	1	3
Refluxnephropathie	0	1	0	1	2
Vaskulitis	0	0	2	0	2
Hypertonus	0	1	0	0	1
chronisch interstitielle Nephritis	0	0	0	1	1
perimembranöse Glomerulonephritis	0	0	1	0	1
Alport-Syndrom	0	0	1	0	1
hydronephrotische Sackniere	0	0	0	1	1
SLE	0	0	1	0	1
Schwangerschaftnephropathie	1	0	0	0	1
primär maligne Nephrosklerose	0	1	0	0	1
Goodpasture-Syndrom	0	1	0	0	1
<b>Gesamtkollektiv</b>					<b>109</b>

Die Verteilung der Grunderkrankungen zwischen den einzelnen Unterkollektiven zeigte keinen signifikanten Unterschied. Die chronische Glomerulonephritis ist in allen vier Unterkollektiven die häufigste Ursache der Niereninsuffizienz.

#### **3.4.4.2 Geschlecht des Empfängers**

Im untersuchten Gesamtkollektiv, bestehend aus 65 Männern und 44 Frauen, hatte das Geschlecht des Empfängers keinen signifikanten Einfluß auf die Überlebensprognose des Transplantats [Chi<sup>2</sup>: p=0.89].

#### **3.4.4.3 CMV-Status**

Von den 109 untersuchten Patienten lag nur bei 86 (78,9 %) Organempfängern ein aktueller serologischer CMV-Status vor NTx vor, wobei 53 (61,6 %) CMV-positive, 33 (38,4 %) CMV-negative Serobefunde aufwiesen. Der CMV-Status des Empfängers hatte im Gesamtkollektiv

keinen signifikanten Einfluß auf die Transplantatüberlebensrate [ $\text{Chi}^2$ :  $p=0.44$ ].

### 3.4.5 Spender / Empfänger-Spender-Konstellationen

#### 3.4.5.1 Geschlecht des Spenders / Empfängers

Das Durchschnittsalter des Spenders zum Zeitpunkt der Transplantation betrug  $39 \pm 3$  Jahre (min.: 16 Jahre, max.: 65 Jahre). Von den 109 Spendern waren 56 Männern (51 %) und 38 Frauen (35 %), von 15 Spendern (14 %) war das Geschlecht nicht dokumentiert. Zur Beurteilung des Empfänger- und Spendergeschlecht-Matchings wurde eine 2x2-Felder-Tafel erstellt. Im vorliegenden Kollektiv konnte im direkten Vergleich der einzelnen Empfänger-

**Abbildung 30: Empfänger-Spenderkonstellation**

		Empfänger	
		♂	♀
S p e n d e r	♂	30 (31,9 %)	20 (21,3 %)
	♀	28 (26,3 %)	16 (17,0 %)

Spender-Geschlechtskonstellationen (m:m; m:w; w:m; w:w) keine Konstellation als signifikant ungünstiger Parameter für die Transplantatprognose ermittelt werden [ $\text{Chi}^2$ :  $p=0.21$ ].

#### 3.4.5.2 HLA-Matching

Angaben zur Auswertung und Prognose des HLA-Matchings sind unter Absatz 3.4.7.1, Seite 46 angegeben.

#### 3.4.5.3 CMV-Status des Empfängers und des Spenders

Gleich dem CMV-Status des Empfängers allein (Absatz 3.4.4.3, Seite 44), hatte das serologische CMV-Matching zwischen Spender und Empfänger (CMV-pos. Spender auf CMV-pos. Empfänger, CMV-neg. Spender auf CMV-neg. Empfänger, CMV-pos. Spender auf CMV-neg. Empfänger, CMV-neg. Spender auf CMV-pos. Empfänger) keinen signifikanten Einfluß auf die Transplantatprognose [ $\text{Chi}^2$ :  $p=0.65$ ]

### 3.4.6 Klinisch-operative Faktoren

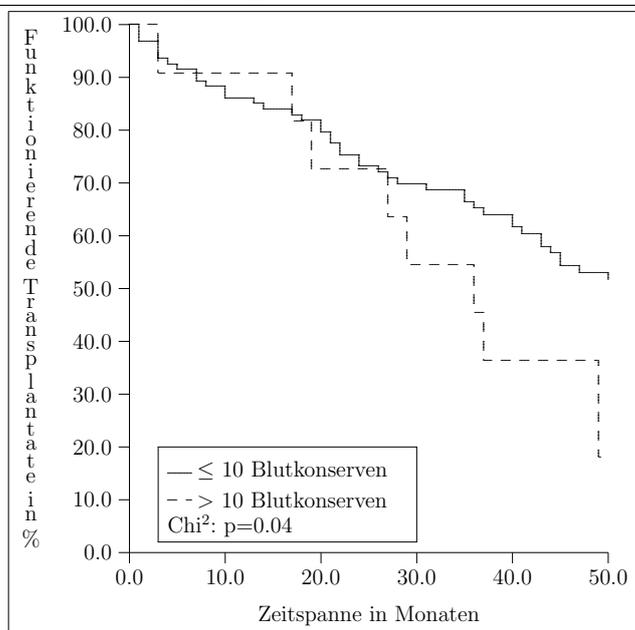
#### 3.4.6.1 Bluttransfusionen

Durchschnittlich wurden dem Empfänger  $6,53 \pm 12,50$  Blutkonserven während bzw. kurz nach der Transplantation transfundiert. Dabei zeigte sich große Varianzbreite der transfundierten Blutkonserven, von einem generellen Verzicht bis zu 70 Konserven intra- bzw. postoperativ.

Im untersuchten Gesamtkollektiv zeigte sich ab einem Transfusionsvolumen von 10 oder

mehr Blutkonserven eine signifikante Verschlechterung der Transplantatüberlebensrate [Chi<sup>2</sup>: p=0.04] (Abbildung 31, Seite 46).

**Abbildung 31: Transplantatüberlebensrate** - Vergleich der Prognose zwischen Empfängern mit bis zu 10 und Empfängern mit mehr als 10 Blutkonserven



### 3.4.6.2 Kaltischämiezeit

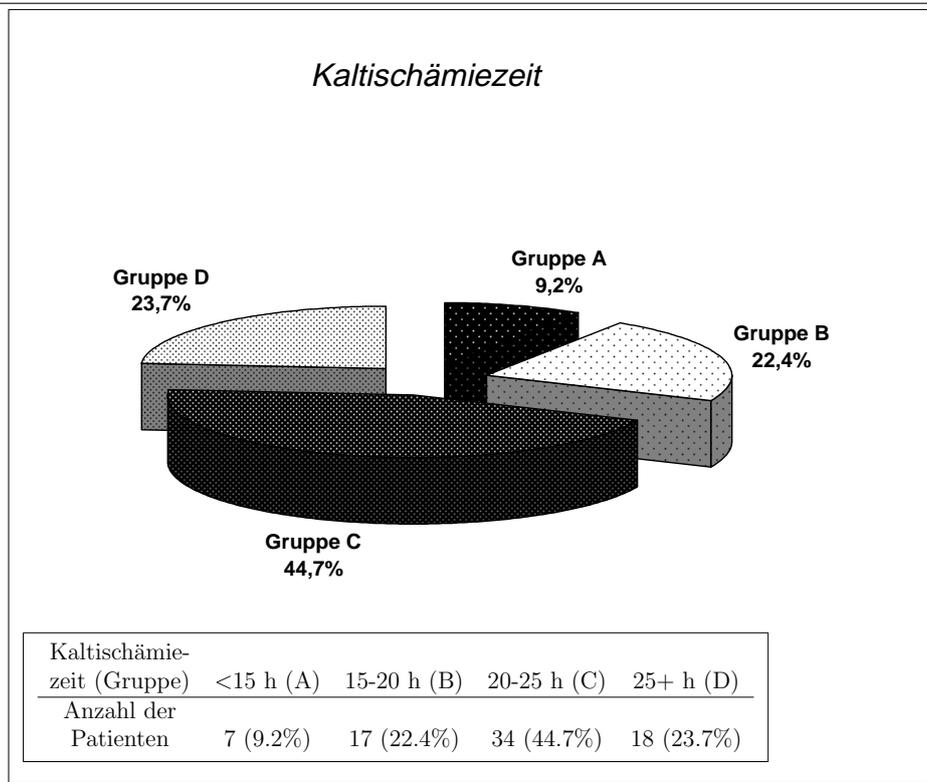
Als Kaltischämiezeit wird der Zeitraum zwischen der Explantation des Spenderorgans inklusive Kühlung und dem Beginn der Wiedererwärmung mit Reperfusion definiert. Hauptsächlich ist die Kaltischämiezeit von der Transportstrecke vom Explantationsort zum Implantationsort abhängig. Zur Analyse einer prognostischen Bedeutung der Kaltischämiezeit wurden in der vorliegenden Untersuchung 4 Gruppen gebildet; Gruppe A: < 15 h, Gruppe B:  $\geq 15$  h, < 20 h, Gruppe C:  $> 20$  h,  $\leq 25$  h, Gruppe D:  $> 25$  h. Im Durchschnitt lag die Kaltischämiezeit bei  $22.54 \pm 7.39$  h.

Für die Transplantatüberlebensrate spielte die Kaltischämiezeit keine entscheidende Rolle [Chi<sup>2</sup>: p=0.37].

### 3.4.7 Immunologische Faktoren

#### 3.4.7.1 HLA-Matching

Die fehlenden Übereinstimmungen der Gewebsdeterminanten (HLA-A, HLA-B, HLA-DR sowie deren Addition) des Spenders mit denen des Empfängers werden als HLA-Mismatch bezeichnet. Im Gesamtkollektiv lag der durchschnittliche Mismatch des HLA-A Locus bei  $1.08 \pm 0.77$ , der des HLA-B Locus bei  $1.14 \pm 0.71$ , der des HLA-DR Locus bei  $0.78 \pm 0.70$  und der Gesamt-HLA-Mismatch bei  $2.76 \pm 1.51$ . Im vorliegenden Gesamtkollektiv zeigten

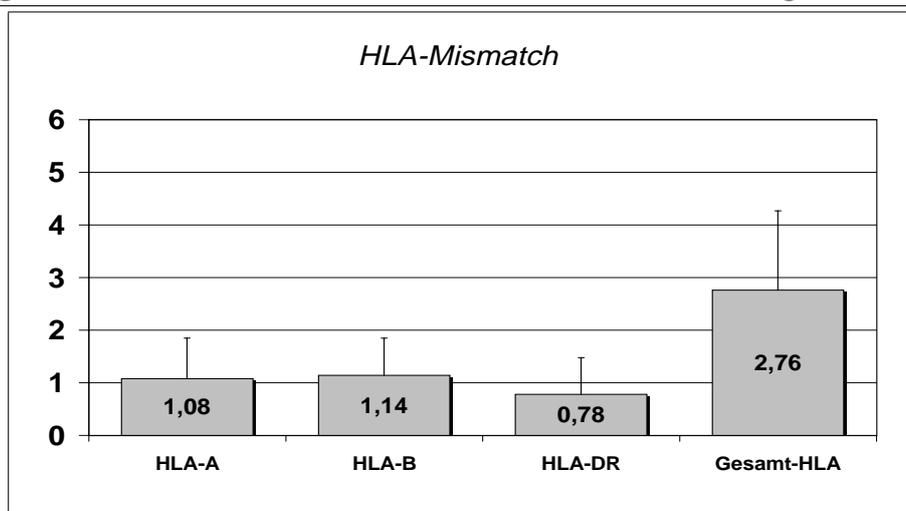
**Abbildung 32: Kaltischämiezeit** - Einteilung in Gruppen abhängig von der Dauer der Kaltischämiezeit

sich bei der Analyse der Transplantatüberlebensprognose keine signifikanten Unterschiede zwischen den Mismatchausprägungen weder auf dem HLA-A, HLA-B oder HLA-DR Locus noch in deren Addition (Gesamt-HLA-Mismatch). Lediglich für HLA-A konnte ein Trend bestimmt werden, ohne daß dieser jedoch eine Signifikanz erreichte [Chi<sup>2</sup>: p=0.08].

### 3.4.7.2 Panel-reaktive Antikörper

Zur Bestimmung panel-reaktiver Antikörper (PRA), d.h. empfängereigener komplementbin-  
dener zytotoxischer Antikörper gegen körperfremde Leukozyten, wird das Empfängerserum  
mittels standardisierter Testseren und Komplementlösung auf einen potentiellen Grad einer  
Zytolyse untersucht. Die Angabe erfolgt dabei in [%], wobei 0 % keine, 100 % eine kom-  
plette Zytolyse der Fremdleukozyten bedeutet. Die Bestimmung PRA erfolgt standardisiert  
vor NTx, wenige Wochen nach NTx und während der weiteren Nachsorge. Für die statisti-  
sche Auswertung erfolgte eine Einteilung in 3 Gruppen, wobei der ersten Gruppe Patienten  
mit PRA-Titern unter 33 %, der zweiten Gruppe Patienten mit PRA-Titern zwischen 33 %  
und <66 % und der dritten Gruppe Patienten mit einem PRA-Titer über 66 % zugeordnet  
wurden. Diese Einteilung wurde jeweils für die Titer prä- und postoperativ sowie für den  
Maximaltiter während des Nachsorgezeitraumes durchgeführt.

In 105 der 109 untersuchten Fälle lagen Untersuchungsergebnisse panel-reaktiver Antikörpern

**Abbildung 33: HLA-Mismatch** - Durchschnittliches Mismatching im Gesamtkollektiv

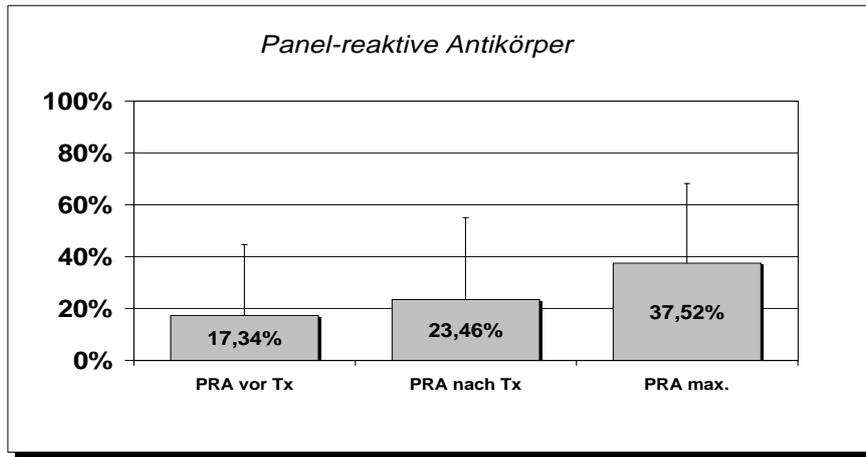
vor. Dabei konnten bei der Mehrzahl der Patienten sowohl vor und nach NTx, als auch während der Nachsorge, Titer unter 33 % (Gruppe 1) bestimmt werden. Lediglich in 8 bzw. 9 Fällen ließen sich PRA-Titer über 33 % vor und nach NTx (Gruppe 2) sowie in 7 (vor NTx) bzw. 10 Fällen (nach NTx) PRA-Titer über 66 % (Gruppe 3) messen. Auch bei der Verlaufskontrolle im Rahmen der Nachsorge lagen die meisten Patienten unter 33 %, jedoch wiesen immerhin 22 Patienten einen Titer von mehr als 33 %, 15 Patienten sogar Titer von über 66 % auf (Abbildung 34, Seite 48).

**Abbildung 34: Panel-reaktive Antikörper** - Einteilung der Patienten (P) in drei Gruppen, nach dem maximalen Titer panel-reaktiver Antikörper nach NTx (< 33%, > 33% < 66%, > 66%)

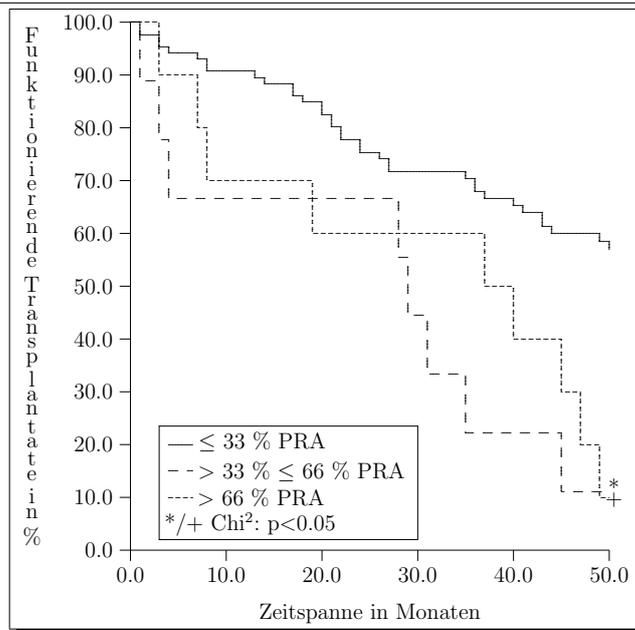
	PRA vor NTx	PRA nach NTx	PRA max.
< 33%	90 (P)	86 (P)	68 (P)
> 33% < 66%	8 (P)	9 (P)	22 (P)
> 66%	7 (P)	10 (P)	15 (P)
Durchschnitt:	17.34±27.36	23.46±31.60	37.52±30.71

Bei der Analyse der Transplantatüberlebensraten zeigte sich im Gesamtkollektiv eine signifikante Verschlechterung der Prognose ab einem Titer >33 % nach NTx (Gruppe 1 vs. Gruppe 2 und 3)(Abbildung 36, Seite 49) [Chi<sup>2</sup>: p<0.05]. Hingegen konnte keine zusätzliche Signifikanz zwischen Patienten mit einem PRA-Titer zwischen 33 % und 66 % (Gruppe 2) und Patienten mit PRA-Titern > 66 % (Gruppe 3) erkannt werden.

**Abbildung 35: Panel-reaktive Antikörper** - Mittelwerte panel-reaktiver Antikörpertiter in den drei Gruppen: vor und nach NTx, sowie der Maximaltiter während der Nachsorge



**Abbildung 36: Transplantatüberlebensrate** - Analyse der Transplantatüberlebensprognose von Patienten mit niedrigen, mittleren und hohen Titern panel-reaktiver Antikörper innerhalb der 1. Woche nach NTx



**3.5** Transplantatüberlebensprognose - multivariate Analyse**Tabelle 14: Multivariate Analyse** - Transplantatsüberlebensrate in Relation zu den morphologischen Befunden, Cox-Proportional-Hazard-Model

<i>Einflußgröße</i>	<i>Risiko Ratio</i>	<i>Lower CL</i>	<i>Upper CL</i>	<i>Signifikanzniveau</i>
VAR ± TGP	3,18	1,39	8,41	<0,001
TGP isoliert	0,94	0,52	1,73	0,369
Plasmazellreichtum	1,16	0,75	1,80	0,4663

Zur Bestimmung der Wertigkeit der einzelnen Faktoren in Bezug auf das Transplantatüberleben wurde eine multivariate Analyse mittels des Cox-Proportional-Hazard-Modells durchgeführt. Die untersuchten Faktoren umfaßten die vaskuläre Abstoßung, die Transplantatglomerulopathie, den Plasmazellreichtum, die Grunderkrankung, das Geschlecht des Empfängers und des Spenders, eine CMV-Infektion des Empfängers und des Spenders, das Spenderalter, den Blutdruck des Spenders bei NTx, die Anzahl der Bluttransfusionen, das HLA-A-, HLA-B-, HLA-DR-, und HLA-Gesamt-Mismatching, die Titer panel-reaktiver Antikörper prä- und postoperativ sowie des Maximaltiters innerhalb des Beobachtungszeitraumes und die Kaltischämiezeit.

**Tabelle 15: Multivariate Analyse** - Transplantatsüberlebensrate in Relation zu nicht-immunologischer Parametern, Cox-Proportional-Hazard-Model

<i>Einflußgröße</i>	<i>Risiko Ratio</i>	<i>Lower CL</i>	<i>Upper CL</i>	<i>Signifikanzniveau</i>
Alter bei Tx	1,00	0,98	1,03	0,582
Geschlecht - Empf.	0,86	0,53	1,40	0,554
Grunderkrankung	1,01	0,95	1,07	0,753
Alter - Spender	1,00	0,98	1,01	0,669
Geschlecht - Spen.	0,89	0,98	1,01	0,641
Blutdruck syst.	1,00	0,98	1,02	0,980
Blutdruck diast.	0,97	0,94	1,00	0,05

Wie aus Tabelle 14, Seite 50 ersichtlich wird, hat bei den morphologischen Parametern lediglich die vaskuläre Abstoßungsreaktion einen signifikanten Einfluß auf die Transplantatüberlebensrate. Der Plasmazellreichtum ansich, sowie eine alleinige Transplantatglomerulopathie, d.h. ohne ein Auftreten einer VAR über den gesamten Beobachtungszeitraum, sind keine signifikant relevanten Faktoren für ein schlechteres Transplantatüberleben. Bei der Betrachtung der nicht-immunologischen Parameter (Tabelle 15, Seite 50) zeigte sich, daß das Alter des Empfängers bei Transplantation, sein Geschlecht, die zugrunde liegende Grunderkrankung, das Alter des Spenders, dessen Geschlecht, der systolische sowie diastolische Blutdruck bei Organentnahme keinen unabhängigen Einfluß auf das Transplantatüberleben haben. Auch bei der Betrachtung immunologischer Parameter (Tabelle 16, Seite 51)

**Tabelle 16: Multivariate Analyse** - Transplantatsüberlebensrate in Relation zu primären immunologischen und sekundär wirksamen immunologischen Parametern, Cox-Proportional-Hazard-Model

<i>Einflußgröße</i>	<i>Risiko Ratio</i>	<i>Lower CL</i>	<i>Upper CL</i>	<i>Signifikanzniveau</i>
Bluttransfusionen	1,01	0,93	1,10	0,744
HLA-A	0,68	0,20	2,23	0,534
HLA-B	1,96	0,46	8,50	0,369
HLA-DR	1,36	0,32	5,75	0,685
HLA-Gesamt	0,87	0,27	2,80	0,829
Kaltischämiezeit	1,06	0,99	1,14	0,078
PRA vor Tx	1,02	0,99	1,04	0,254
PRA nach Tx	1,01	0,97	1,04	0,471
PRA max.	0,99	0,97	1,00	0,099
CMV - Empfänger	1,24	0,67	2,24	0,478
CMV - Spender	1,08	0,58	2,00	0,814

konnte für keinen Faktor eine unabhängige Signifikanz in Bezug auf eine schlechtere Transplantatüberlebensprognose ermittelt werden. Dies gilt für die Anzahl der Bluttransfusionen, das HLA-Matching, die Kaltischämiezeit, die Blutwerte panel-reaktiver Antikörper prä- und postoperativ sowie des Maximaltiters während der Nachsorge und für CMV-Infektionen des Empfängers und Spenders.

Bei der abschließenden Analyse (Tabelle 17, Seite 52) aller möglichen relevanten Einflußfaktoren auf die Transplantatüberlebensrate wurde abermals deutlich, daß die vaskuläre Ab-

stoßungsreaktion mit Abstand den entscheidenden Parameter für eine schlechte Prognose darstellt.

**Tabelle 17: Multivariate Analyse** - Transplantatsüberlebensrate in Relation zu allen untersuchten möglichen Einflußfaktoren, Cox-Proportional-Hazard-Model

<i>Einflußgröße</i>	<i>Risiko Ratio</i>	<i>Lower CL</i>	<i>Upper CL</i>	<i>Signifikanzniveau</i>
VAR ± TGP	6,98	1,24	41,75	<0,001
TGP isoliert	3,21	0,09	115,97	0,511
Plasmazellreichtum	1,54	0,35	7,11	0,589
Alter bei Tx	1,01	0,95	1,07	0,788
Alter - Spender	1,00	0,95	1,06	0,976
Grunderkrankung	0,78	0,54	1,17	0,216
Geschlecht - Empf.	0,80	0,15	4,06	0,788
Geschlecht - Spender	0,40	0,08	2,84	0,332
RR sys.	0,86	0,75	0,97	0,101
RR diast.	1,08	0,95	1,24	0,214
CMV - Empf.	0,56	0,14	2,61	0,442
CMV - Spender	2,12	0,57	8,59	0,247
Kaltischämiezeit	1,37	1,11	1,75	0,301
Bluttransfusionen	0,89	0,74	1,11	0,285
HLA-A	1,24	0,27	5,31	0,779
HLA-B	2,51	0,48	31,31	0,159
HLA-DR	1,64	0,49	7,07	0,436
HLA-Gesamt	1,21	0,59	2,56	0,602
PRA vor Tx	1,06	0,99	1,15	0,075
PRA nach Tx	0,97	0,91	1,04	0,357
PRA max.	1,03	0,57	1,08	0,279

## 4 Diskussion

Die morphologische Diagnostik zur Differenzierung von abstoßungs- und nicht-abstoßungsspezifischen Läsionen ist für die klinische Therapie von entscheidender Bedeutung. Dabei ist die invasive Nierenbiopsie bis heute als Goldstandard anzusehen [18]. Das morphologische Bild einer Abstoßungsreaktion ist, wie viele Autoren bestätigen [2, 18, 85, 98], obligat durch eine interstitielle Infiltration immunkompetenter Zellen, darunter  $CD4^+$ -,  $CD8^+$ -T-Lymphozyten, Makrophagen und B-Lymphozyten, charakterisiert. Zusätzlich spielen sich fakultativ Abstoßungsprozesse auch im Bereich der Gefäße - als Transplantatvaskulopathie - und der Glomerula - als Transplantatglomerulopathie bezeichnet - ab.

Neben diesen klassischen morphologischen Konstellationen werden in der histopathologischen Diagnostik immer wieder Biopsien mit einer auffallend hohen Plasmazellfraktion gesehen. Bereits Busch et al., sowie Schlüter et al. [10, 11, 89] beschrieben Mitte der 70iger Jahre dieses histologische Phänomen, wobei die Pathogenese oder gar die prognostische Bedeutung dieser plasmazellreichen Infiltrate nicht weiter verfolgt wurde. Obgleich diese Form der interstitiellen Abstoßungsreaktion bereits seit langem bekannt ist, wurde ihre Dignität hinsichtlich Verlauf und vor allem die prognostische Bedeutung und die damit verbundenen klinisch-therapeutischen Optionen bis heute nicht hinreichend aufgeklärt.

Um das morphologische Bild einer Abstoßungsreaktion richtig interpretieren zu können, ist das Verständnis der Pathogenese von Abstoßungsprozessen von grundlegender Bedeutung. Abstoßungsreaktionen basieren grundsätzlich darauf, daß das Transplantat durch den Empfängerorganismus als fremd erkannt wird [61]. Sie stellen in ihrer Genese einen komplizierten, multifaktoriellen Prozeß dar, der durch das Zusammenspiel von antigenpräsentierenden Zellen mit dem T-Zell-System unter Beteiligung des B-Zell-System ausgelöst wird [4]. So lassen sich grundsätzlich zellvermittelte und humorale Abstoßungsmechanismen unterscheiden, wobei die unterschiedliche Beteiligung dieser Mechanismen in Transplantaten variiert, was sich auch in dem entsprechenden histologischen Korrelat widerspiegelt.

Bereits erste Experimente auf dem Gebiet der Transplantation zeigten, daß die für die Immunogenität verantwortlichen Antigene sich hauptsächlich auf den HLA (human leukocyte antigen)-Loci befinden [113, 102, 84, 101]. Wie kommt es nun aber im einzelnen zu einer Abstoßungsreaktion gegen das Transplantat ?

Professionelle antigenpräsentierende Zellen (APCs) - Makrophagen und dendritische Zellen - erkennen über einen spezifischen Rezeptor ein vermeindliches Pathogen mittels dessen PAMP (pathogen-associated molecular pattern), das ein für das Pathogen spezifisches membranständiges Zelloberflächenmolekülmuster darstellt [24]. Die APCs phagozytieren und prozessieren das Fremdanigen intrazellulär und präsentieren es in der antigenbindenden Grube der wirtseigenen MHC-Klasse-II-Moleküle.  $CD4^+CD28^+$ T-Zellen erkennen mittels des T-Zellrezeptors das prozessierte Fremdanigen im MHC-Komplex. Diese spezifische Zellinteraktion des T-Zell-Rezeptor mit dem MHC-Komplexes wird als Signal 1 bezeichnet. Zur endgültigen Aktivierung der T-Zellen sind jedoch weitere costimulatorische Interaktionen (als Signal 2 bezeichnet) nötig: So bindet das CD28-Molekül der T-Zellen vor allem an B7

(B7-1/CD80, B7-2/CD86), ein von dendritischen Zellen exprimiertes oberflächliches Molekül [15]. Des Weiteren ist eine costimulatorische Aktivierung auch über die Bindung von CD40 der T-Zellen mit CD154 (CD40-Ligand) möglich [33]. Experimentelle Studien beweisen, daß für eine Abstoßungsreaktion costimulatorische Faktoren von entscheidender Bedeutung sind: B7-Moleküle können bei Transplantaten bereits 24 Stunden nach Transplantation auf Endothelzellen des Spenderorganes nachgewiesen werden [88], bei genetischen identischen Spender- und Empfängermechanismen ist diese Expression nicht zu beobachten. Die Expression von costimulatorischen Faktoren ist somit Folge der Transplantation genetisch nicht identischer Empfänger und Spender [88].

Zudem kommt es durch die Freisetzung von Zytokinen, die von den verschiedensten Zellpopulationen (vor allem  $CD4^+$ -T-Lymphozyten) gebildet werden und durch eine direkte Interaktion der Zellen untereinander zu einer Aktivierung unterschiedlicher Lymphozytenpopulationen, darunter  $CD4^+$  T-Zellen (Th1 und Th2),  $CD8^+$  T-Zellen, Makrophagen, B-Zellen und antikörperbildenden Plasmazellen, die dann in den Abstoßungsprozeß involviert werden. Bei diesen komplexen Interaktionen spielen auch Adhäsionsmoleküle, vor allem ICAM [94], eine wichtige Rolle. Nach Womer et al. [113] läßt sich bei zellvermittelten Abstoßungsreaktionen ein direkter von einem indirekten Weg unterscheiden:

Beim **direkten Weg** erkennen T-Zellen des Empfängers allogene MHC-Moleküle auf der Oberfläche einer antigenpräsentierenden Zelle des **Spenders**. Normalerweise erkennen T-Zellen fremde Peptide nur über die Präsentation mit eigenen MHC-Molekülen; im Falle des direkten Weges wird ein Erkennungsmechanismus in Form des molekulares Mimikry angenommen, d.h. Spender-MHC mit gebundenen Fremdpeptiden ähnelt in der 3-dimensionalen Struktur dem natürlichen MHC-Komplex des Empfängers [88]. Dendritische Retikulumzellen sind als APCs besonders immunogen, nicht nur weil sie MHC Klasse I und II Moleküle, sondern auch reichlich costimulatorische Moleküle, insbesondere B7, exprimieren. Sowohl  $CD4^+$ Helfer- als auch  $CD8^+$ -zytotoxische T-Zellen des Transplantatempfängers sind an der Transplantatabstoßungsreaktion beteiligt,  $CD4^+$ Helfer-T-Zellen werden mittels Erkennung der Fremdpeptide mit Klasse II-Antigenen stimuliert und proliferieren. Vorläufer der  $CD8^+$ -T-Zellen mit Rezeptoren für MHC Klasse I-Moleküle differenzieren sich, abhängig von der Freisetzung bestimmter Zytokine (IL-2, INF- $\gamma$ , TNF- $\beta$ , GM-CSF) durch die Th1-Subpopulation der  $CD4^+$ -T-Helfer-Lymphozyten zu reifen  $CD8^+$ -T-Zellen. Nach Ausreifung der  $CD8^+$ -T-Lymphozyten findet die eigentliche direkte zytotoxische Reaktion mit dem Transplantat statt.  $CD4^+$ -T-Zellen proliferieren ebenfalls, produzieren Zytokine mit Mediatorenwirkung und können über die  $CD4^+$ -Th1-Subpopulation Makrophagen aktivieren.  $CD4^+$ -T-Zellen und aktivierte Makrophagen sind in Abwesenheit von  $CD8^+$ -Lymphozyten [47] über eine delayed-type hypersensitivity-Reaktion (DTH) effektiv an der Abstoßungsreaktion mitbeteiligt.

Der **indirekte Weg** der Alloerkennung erfolgt dadurch, daß Antigene des Transplantats durch antigenpräsentierende Zellen des **Empfängers** aufgenommen werden und nach einem Processing als Fremdpeptide in der antigenbindenden Grube des wirtseigenen MHC Klasse II Moleküls präsentiert und über eine Interaktion mit  $CD4^+$ -T-Lymphozyten erkannt

werden. CD4<sup>+</sup> Th1-Lymphozyten stimulieren über IL-2, INF- $\gamma$ , TNF- $\beta$ , GM-CSF CD8<sup>+</sup>T-Lymphozyten und Makrophagen, die dann wiederum in zytotoxischen Reaktionen das Transplantat schädigen.

Neuere Untersuchungen weisen darauf hin, daß der direkte Weg bei akuten Abstoßungsprozessen, der indirekte Weg bei chronischen Abstoßungsprozessen dominiert [113].

Neben den Major Histocompatibility Complex (MHC) spielen auch Minor Histocompatibility Antigens (mHAg) eine wichtige Rolle bei Abstoßungsprozessen. Reaktionen gegen einzelne mHAg sind weit weniger ausgeprägt als gegen MHCs, da die Anzahl spezifisch reaktiver CD8<sup>+</sup>T-Lymphozyten limitiert ist. Die mHAg - prozessierte Peptide aus polymorphen, körpereigenen Proteinen - werden dabei über Selbst-MHC-Klasse-I, seltener über Selbst-MHC-Klasse-II an der Zelloberfläche präsentiert. Theoretisch kann jedes Zellprotein in Peptide gespalten werden und als mHAg fungieren, wobei nur einzelne klinisch relevante antigene Potential zu haben scheinen [36].

Neben zellulären können auch humorale Abstoßungsmechanismen, d.h. antikörperabhängige Abstoßungsreaktionen zum Tragen kommen. Dabei können präformierte Antidonor-Antikörper (Antikörpern gegen MHC und non-MHC-Antigene wie Antigene des Endothels sowie AB0-Blutgruppenantigene), etwa durch eine Schwangerschaft oder vorausgegangene Transplantation induziert, eine Abstoßungsreaktion auslösen. Diese als hyperakute Abstoßung bekannte Reaktion ist heute durch entsprechendes Matching sehr selten.

Der weitaus häufigere Weg erfolgt über eine Interaktion reifer B-Zellen mit CD4<sup>+</sup>-Th2-Lymphozyten. Dabei wird ein Antigen von der B-Zelle über den membranständigen B-Zell-Rezeptor spezifisch gebunden, aufgenommen und nach einem Processing zusammen mit MHC-Klasse-II-Molekülen CD4<sup>+</sup>-Lymphozyten präsentiert. Über die Bindung von CD154 (CD40L), einem Oberflächenmarker der T-Zellen mit CD40 der B-Zellen wird eine Signalkaskade initiiert, die die B-Zelle zur Proliferation und Differenzierung in Plasmazellen anregt. Dieser Vorgang wird durch verschiedenste Zytokine darunter IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, IL-14, die vor allem durch T-Helfer-Zellen exprimiert werden, unterstützt bzw. unterhalten. Die Antikörperwirkung kommt sowohl im Rahmen des direkten als auch des indirekten Weges durch verschiedene Mechanismen - antikörpervermittelte komplementabhängige Zytotoxizität, antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität - zum Tragen.

Prinzipiell können sich sowohl zelluläre als auch humorale Abstoßungsreaktionen im Interstitium sowie im Bereich der Gefäße und Glomerula abspielen. Obwohl die akzelerierte akute Abstoßungsreaktion, d.h. eine akute Abstoßungsreaktion innerhalb der ersten Tage bis Wochen, als Ursache eines fulminanten Transplantatverlustes mittlerweile eine Seltenheit ist [59], macht fast jeder Empfänger im Verlauf nach Transplantation mehrere akute interstitielle Abstoßungsprozesse durch.

Korrelierend mit Beschreibungen von Colvin [18] konnte auch in der vorliegenden Arbeit das grundlegende morphologische Bild einer IAR mit Dominanz von CD8<sup>+</sup>-T-Lymphozyte gefolgt von Makrophagen und B-Lymphozyten bestätigt werden, während CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten in dieser Untersuchung mit 4,52 % nur in geringer Anzahl nachweisbar waren.

Dies kann durch den zeitlichen Ablauf der Transplantatabstoßungsreaktion erklärt werden, wobei, wie oben bereits erläutert, CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten Transplantatantigene auf APCs initial erkennen und konsekutiv CD8<sup>+</sup>-T-Lymphozyten aktivieren. Das in den meisten Biopsien zu beobachtende morphologische Bild könnte so einem bereits späteren Stadium in der Pathogenese interstitieller Abstoßungsreaktionen entsprechen. Diese Beobachtungen werden durch morphologische Untersuchungen Colvins [18] bestätigt, bei denen CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten ebenfalls vornehmlich in frühen Biopsien zu beobachten waren.

Die vaskuläre Abstoßungsreaktion ist eine gefürchtete Komplikation, die im untersuchten Kollektiv bei 47 % der Patienten im Krankheitsverlauf histologisch nachgewiesen werden konnte. Diese Angaben decken sich nicht mit Ergebnissen von Kooijmans-Coutin et al. [44], die in ihrem Kollektiv bei 18 von 67 Patienten (27 %) eine vaskuläre Abstoßungsreaktion diagnostizierten, sowie mit Untersuchungen von Koike et al [42], die in ihrem Kollektiv nur bei 11 % der Patienten eine akute vaskuläre Abstoßungsreaktion beobachten konnten. Diese deutliche Differenz zeigt eine prinzipielle Schwierigkeit dieser Auswertung auf. Im Gegensatz zu den meisten Publikationen, die auf Daten von Patienten basieren, die im Rahmen der klinischen Nachsorge erhoben werden, geht die vorliegende Arbeit von einem morphologischen Kollektiv aus, das auf einer Analyse von Biopsien und Explantaten aufbaut. Da in der heutigen klinischen Nachsorge nicht standardmäßig, sondern nur bei Komplikationen biopsiert wird, ist das Patientengut dieser Arbeit bereits von vornherein im Sinne schwerwiegender ungünstiger Verläufe vorselektiert. Damit wird auch verständlich, daß in dieser Analyse die Anzahl der Patienten mit vaskulären Abstoßungsprozessen erwartungsgemäß deutlich über den Angaben anderer Autoren liegt.

Die Transplantatglomerulopathie (TGP) ist eine weitere, den klinischen Verlauf komplizierende Manifestation einer vaskulären Abstoßungsreaktion, gerichtet gegen das Endothel der Glomerula. Im vorliegenden Kollektiv konnte bei 20 % aller 399 Präparate eine TGP diagnostiziert werden. Diese Ergebnisse stimmen mit Angaben von Gärtner et al. [32] überein, die in 16 % der untersuchten Nierenbiopsien eine Transplantatglomerulopathie diagnostizieren konnten. Auch konnte in der vorliegenden Untersuchung das von Gärtner et al. [32] beschriebene oftmals parallele Auftreten einer VAR und einer TGP bestätigt werden.

All die oben beschriebenen morphologischen Befunde sind in der zeitgenössischen Literatur ausführlich dokumentiert und diskutiert, allerdings gibt es nur wenige Untersuchungen, die sich mit den Plasmazellen im Rahmen akuter und chronischer Abstoßungsprozesse beschäftigen [63, 16, 22, 73, 10]. Selbst der Begriff einer plasmazellreichen Abstoßungsreaktion ist in der gegenwärtigen Literatur strittig. So sehen David-Neto et al. [22] die Plasmazellen nicht in einem direkten Zusammenhang mit einer Abstoßungsreaktion, sondern sprechen von einer „akuten plasmazellreichen Nephritis“ als Ausdruck einer aufgepropften Infektion oder einer Hypersensitivitätsreaktion gegen Medikamente. Ihrer Meinung nach läßt sich dies durch das fehlende Ansprechen bei Intensivierung der immunsuppressiven Therapie (Cortison) begründen. Allerdings bleiben David-Neto et al. in ihrer Arbeit [22] einen Nachweis des Erregers bzw. des Medikaments schuldig.

Bei der vorliegenden retrospektiven morphologischen Analyse über einen Zeitraum von 13

Jahren konnten in 15 % aller Präparate plasmazellreiche Infiltrate im Rahmen einer akuten oder chronischen interstitiellen Abstoßungsreaktion beobachtet werden. Diese Angaben liegen deutlich über den Ergebnissen der Untersuchungen von Meehan et al. [63], die Nierenbiopsien über einen Zeitraum von 3 Jahren morphologisch ausgewertet haben. In ihrer Arbeit sind lediglich 2 % der untersuchten Nierenbiopsien plasmazellreich, obwohl die Ein- schlußkriterien vergleichbar waren. Eine Erklärung für diese Differenz liegt möglicherweise im unterschiedlichen gewählten Beobachtungszeitraum begründet. Während in der vorliegenden Untersuchung die meisten plasmazellreichen Biopsien aus den Anfangsjahren (1985-1994) des Beobachtungszeitraumes stammen, haben Meehan et al. [63] ausschließlich Biopsien aus den 90iger Jahren über einen Zeitraum von 3 Jahren untersucht. Ein Grund für den Rückgang plasmazellreicher Biopsien ist möglicherweise im Wandel des immunsuppressiven Regimes zu sehen.

Quantitativ machen Plasmazellen bei plasmazellreichen, akuten interstitiellen Abstoßungsreaktionen durchschnittlich 29 %, bei plasmazellreichen, chronischen Abstoßungsprozessen rund 30 % der Infiltrate aus. Diese Angaben decken sich mit Untersuchungen von Meehan et al. [63], die bei plasmazellreichen, akuten Abstoßungsreaktionen die Plasmazellfraktion mit einem durchschnittlichen Anteil 32 % an den gesamten Infiltraten angeben. Explantate blieben bei dieser Untersuchung allerdings unberücksichtigt. Für die plasmazellreichen, chronischen interstitiellen Abstoßungsreaktionen liegen in der gegenwärtigen Literatur keine Angaben vor.

Eine zentrale Stellung dieser Arbeit nahm die Rolle der Plasmazellinfiltrate im Krankheitsverlauf sowie ihre mögliche Relevanz auf die Transplantatprognose ein. So stellte sich insbesondere die Frage, ob die Plasmazellen im weiteren Krankheitsverlauf und damit in den Folgebiopsien an Quantität zunehmen und ob daraus ein rascheres Transplantatversagen resultiert.

Der morphologische Verlauf der plasmazellreichen Fälle stellte sich jedoch als sehr heterogen dar. So gab es Verläufe, bei denen eine plasmazellreiche akute Abstoßungsreaktionen nur einmalig auftrat. Andererseits zeigten sich bei einigen Patienten plasmazellreiche Infiltrate nur im Rahmen chronischer Abstoßungsreaktionen, die vorausgegangenen Biopsien mit akuter IAR waren nicht plasmazellreich. Bei einzelnen Patienten ließen sich plasmazellreiche Abstoßungsreaktionen über mehrere Biopsien verfolgen. Dies galt sowohl für Biopsieabfolgen mit ausschließlich akuten interstitiellen Abstoßungsreaktionen als auch beim Übergang in chronische Abstoßungsreaktionen. Oftmals zeigte sich bei diesen Fällen eine Zunahme der Plasmazellen im Verlauf. Erstaunlicherweise ließen sich auch Fälle mit initialem Plasmazellreichtum bei der Erstbiopsie (akute IAR) beobachten, die im weiteren Beobachtungszeitraum plasmazellarm (akute und chronische IAR), bei Explantation allerdings wieder plasmazellreich waren. Häufiger traten allerdings Fälle auf, bei denen plasmazellreiche Abstoßungsprozesse nur im Rahmen chronischer Abstoßungsreaktionen oder nur einmalig im Explantat zu beobachten waren. Die ursprüngliche Vermutung, daß Plasmazellinfiltrate über die Biopsien hinweg an Quantität zunehmen, läßt sich histologisch nicht bestätigen, vielmehr ist

der Verlauf plasmazellreicher Fälle - wie bereits beschrieben - sehr variabel. Dies bedeutet, daß die Quantität der Plasmazellinfiltrate kein zuverlässiger Marker für den aktuellen „Status“ des Verlaufes ist. Dies wird durch Verläufe mit plasmazellhaltigen (Plasmazellfraktion < 20 % der Gesamtpopulation der Infiltrate) Biopsien bestätigt, die während der weiteren Beobachtung nicht unmittelbar in plasmazellreiche Fälle (Plasmazellfraktion > 20 % der Gesamtpopulation der Infiltrate) übergegangen sind.

Bei der Analyse der Plasmazellinfiltrate nach der Quantität in Relation zur Lokalisation konnte diese Arbeit erstmals belegen, daß Plasmazellinfiltrate mit steigender Quantität vorwiegend perivaskulär und periglomerulär anordnet sind. Andere Autoren [63, 16, 22, 73, 10] gingen auf diese Beobachtungen bisher nicht ein. Nach ihren Aussagen liegen die Plasmazellen, korrelierend zu Ergebnissen dieser Untersuchung, zwar oftmals in Zellnestern (Clustern) angeordnet im Interstitium, eine Beziehung zu Gefäßen oder Glomerula war aber nicht zu erkennen. Dies mag auch sicherlich daran liegen, daß diese Arbeiten die Quantität der Plasmazellinfiltrate nicht weiter differenzierten. In der vorliegenden Untersuchung konnte die Korrelation zwischen der Quantität der Plasmazellen und ihrer Lokalisation zu Gefäßen und Glomerula auch erst ab einer relativ hohen Dichte der Infiltrate beobachtet werden.

Bei Betrachtung der Geschlechtsverteilung plasmazellreicher Abstoßungsreaktionen zeigten sich in dieser Untersuchung keine signifikanten Unterschiede. Während Charney et al. [16] eine deutliche Häufung plasmazellreicher Biopsien bei weiblichen Patienten beschreiben, demonstrierten David-Neto et al. [22] an ihrem Kollektiv geradezu das Gegenteil; plasmazellreiche Biopsien wurden in ihren Untersuchungen zum großen Teil bei männlichen Patienten beobachtet. Diese Kontroversität legt den Schluß nahe, daß plasmazellreiche Abstoßungsreaktionen unabhängig vom Geschlecht auftreten.

Das Auftreten plasmazellreicher Abstoßungsreaktionen scheint zudem unabhängig vom Alter der Patienten zu sein. So konnte, wie in vergleichbaren Arbeiten von David-Neto et al. [22] und Charney et al. [16] bereits erwähnt, auch in der vorliegenden Auswertung kein signifikanter Altersunterschied zwischen Patienten mit und ohne plasmazellreichen Abstoßungsreaktionen ermittelt werden.

Wie durch die morphologische Analyse dieser Arbeit deutlich wird, treten Plasmazellen oftmals gemeinsam mit anderen morphologischen Parametern auf. Dabei gehen plasmazellreiche Abstoßungsreaktionen in über der Hälfte der Fälle und damit signifikant häufiger im Vergleich zu dem Kontrollkollektiv mit vaskulären Abstoßungsprozessen und/oder einer Transplantatglomerulopathie einher, was lediglich Saisu et al. [87] in ihren Untersuchungen zu histologischen Merkmalen zwischen interstitiellen Veränderungen und einer akuten vaskulären Abstoßungsreaktion auffiel, andere Autoren [63, 16, 22, 73] gingen in ihren Analysen nicht näher darauf ein. Die Assoziation mit einer VAR bedeutet, daß plasmazellreiche Infiltrate keinen eigenständiger Parameter darstellen, sondern als Indikator einer zusätzlichen VAR±TGP anzusehen sind, was sich, wie bei der Diskussion des prognostischen Relevanz noch deutlich wird, auch in der Transplantatprognose niederschlägt.

Betrachtet man alleinig zytologische Parameter ( $CD4^{+}$ -,  $CD8^{+}$ -T-Lymphozyten, Makrophagen, B-Zellen, Plasmazellen) so lassen diese nur bedingten Rückschluß auf die Prognose zu [69], im Gegensatz dazu sind weiterreichende histologische Befunde etwa der Schweregrad der Abstoßungsreaktion sowie die Anzahl der Abstoßungsperioden für die Prognose sehr wohl entscheidend. So sind sich alle Autoren [38, 57, 58, 1] einig, daß die Quantität und Intensität interstitieller akuter Abstoßungsreaktionen als entscheidende prognostische Faktoren die Entstehung einer chronischen Abstoßungsreaktion zu sehen sind.

Im vorliegenden Kollektiv konnte diese Aussage erwartungsgemäß allerdings nicht nachvollzogen werden. Wie bereits in der Einleitung erwähnt, war es unter der Fragestellung des Plasmazellreichtums als prognostischen relevanter Parameter notwendig, das vorliegende Kollektiv hinsichtlich anderer möglicher prognostischer Einflußfaktoren zu parallelisieren. Diese Parallelisierung wurde selbstverständlich auch für die Anzahl und Intensität akuter und chronischer Abstoßungsprozesse durchgeführt. Da eine Prognoseberechnung hinsichtlich parallelisierter Faktoren statistisch nicht sinnvoll ist, wurde auf eine Auswertung verzichtet.

Neben der Häufigkeit und Intensität akuter interstitieller Abstoßungsprozesse wird in der aktuellen Literatur [87, 32] die vaskuläre Abstoßungsreaktion als entscheidender histologischer Prognosefaktor angesehen. Diese Erkenntnis konnte auch in der vorliegenden Untersuchung mittels univariater als auch multivariater Analysen bestätigt werden. Bei der univariaten Analyse handelt es sich um eine statistische Methode die abhängig von einem einzelnen Parameter die Prognose auswertet, im Gegensatz dazu ermöglicht es die multivariate Analyse das Zusammenspiel und die Abhängigkeit multipler Parameter in einem Ranking auszuwerten.

In der vorliegenden Auswertung konnte anhand der univariaten Analyse die Transplantatglomerulopathie als signifikanter Parameter für eine schlechtere Transplantatüberlebensprognose bestimmt werden, jedoch nicht bedingt durch die TGP als solche, sondern - wie die multivariate Analyse verdeutlicht - durch die häufige Assoziation einer TGP mit einer zusätzlichen vaskulären Abstoßungsreaktion. Diese Erkenntnisse unterstreichen Untersuchungen von Gärtner et al. [32], die die TGP in den meisten Fällen ebenfalls mit einer sich parallel oder im späteren Verlauf entwickelnden VAR korrelieren konnten.

Die TGP als eigenständige Entität wird in der zeitgenössischen Literatur aber durchaus kontrovers diskutiert [32, 65, 55]. Prinzipiell sind sich alle Autoren einig, daß die TGP als glomeruläres Äquivalent einer VAR anzusehen ist. Diskrepante Meinungen bestehen in der Interpretation der Befunde. Da es sich bei der TGP als auch bei der VAR um eine Immunreaktion gegen die Endothelien arterieller Gefäße handelt, gehen Mihatsch et al. [65] und Maryniak et al. [55] stets von einem parallelem Auftreten einer TGP mit einer VAR aus. Nach ihrer Auffassung sind Biopsien, die keine oder unzureichende Gefäßabschnitte zeigen, unterdiagnostiziert. Mihatsch et al. [65] folgern daraus, daß die Diagnose einer TGP unmittelbar auf eine gleichzeitig präsente VAR schließen läßt. Zwar konnten Gärtner et al. [32] diese Parallelität in einer Vielzahl von Biopsien auch belegen, dennoch sind sie der Meinung, daß sich eine TGP vereinzelt auch ohne eine VAR manifestieren kann. Sie belegen dies an histologischen Analysen einzelner längerer Verläufe, in denen sich trotz manifester TGP zu

keinem Zeitpunkt keine VAR entwickelte. Abschließend sollte die TGP dennoch zumindest als Indikator für eine bereits manifeste oder sich später entwickelnde vaskuläre Abstoßung angesehen werden, sie ist deshalb als indirekter Prädiktor für eine ungünstige Prognose zu werten.

Bei der Frage nach der Ursache eines limitierten Transplantatüberlebens müssen viele weitere mögliche Einflussfaktoren, sowohl immunologischer, nicht-immunologischer, als auch klinischer Natur, mit in die Überlegungen einbezogen werden. Grundsätzlich ist bezüglich aller Parameter ein Vergleich der Daten dieser Untersuchung mit denen der aktuellen Literatur nur bedingt aussagekräftig. Wie bereits kurz erwähnt, unterscheidet sich das vorliegende Kollektiv von denen anderer Untersuchungen erheblich. So lagen dieser Untersuchung ausschließlich Krankheitsverläufe von Patienten zugrunde, von denen Biopsien und/oder Explantate vorlagen. Da in der heutigen klinischen Nachsorge nur noch bei unklaren, schwerwiegenden Komplikationen und nicht routinemäßig biopsiert wird, ist das vorliegende Kollektiv hinsichtlich ungünstigerer Verläufe vorselektiert. Beispielhaft sei dies an der mittleren Transplantatüberlebensprognose demonstriert. Während Berechnungen der Prognose an großen Kollektiven der klinischen Nachsorge zeigen, daß die Hälfte der Patienten mit einem Transplantat eines Todspenders nach durchschnittlich 13,8 Jahren wieder dialysiert oder retransplantiert werden müssen [34], wird diese Redialyse- oder Retransplantationsrate im untersuchten Kollektiv bereits nach rund 4 Jahren erreicht. Deutlicher können die Differenzen zwischen einem „morphologischen“ und „klinischen“ Kollektiv nicht aufgezeigt werden.

Nennen wir nun die Faktoren, für die eine eventuelle prognostische Relevanz hinsichtlich der Transplantatüberlebensrate bestehen könnte.

Zuerst zu den klinischen Faktoren. Hinsichtlich der Empfänger-, Spendergeschlechtkonstellationen ( $\sigma:\sigma$ ,  $\sigma:\varphi$ ,  $\varphi:\varphi$ ,  $\varphi:\sigma$ ) wurden in den letzten Jahren Untersuchungen an großen Kollektiven veröffentlicht, die mitunter signifikante Differenzen in der Transplantatüberlebensprognose berechnen konnten [3, 6, 7, 105, 110]. So sollen insbesondere männliche Empfänger, die Transplantate von Frauen erhalten haben, im Vergleich zu männlichen Empfängern mit männlichen Spenderorganen, eine schlechtere Prognose haben [6, 105, 74]. Dies konnte in der vorliegenden Untersuchung nicht bestätigt werden; dies mag sicherlich zu einem Teil an dem mit 109 Patienten für diese Fragestellung relativ kleinen Kollektiv liegen, da eine Signifikanz in den anderen Arbeiten erst ab einer großen Patientenzahl (mehrere hundert Patienten) möglich war.

Ebenso sollen auch adulte Empfänger mit kindlichen Spenderorganen im Vergleich zu Patienten mit altersgleichen Spenderorganen eine schlechtere Prognose haben [105, 7]. Eine mögliche Erklärung dieses Phänomens geht auf die Hypothese von Brenner et al. [6] zurück, in der ein Missverhältnis zwischen der Anzahl der funktionierenden Nephrone und der Körpermasse beschrieben wird. So kommt es bei verhältnismäßig vermehrter Körpermasse in den Glomeruli zu einer Hyperperfusion und damit zu einer progressiven glomerulären Schädigung. Der Untergang eines einzelnen Glomerulums resultiert im Sinne eines circulus vitiosus in den

verbleibenden Glomeruli in einer Aggravierung der Hyperperfusion, so daß sich das Bild einer schleichenden renalen Dysfunktion akzeleriert. Clark et. al [17] sehen in einer geringen Nephronanzahl zudem einen Risikofaktor für die Entwicklung eines renales Hypertonus, eines chronischen Nierenversagens und damit sekundär natürlich auch für ein schlechteres Transplantatüberleben, was die These Brenners „One size may not fit all“ [6] unterstreichen mag.

Aktuelle Arbeiten bestätigen diese pathogenetischen Überlegungen aber nur zum Teil. So untersuchten Nicholsen et al. [75] ultrasonographisch die Transplantatgröße und setzten sie ins Verhältnis zur Körpermasse in kg. Die Ergebnisse zeigten zwar, daß Patienten mit einer niedrigen Transplantatgröße/Körpermasse-Ratio eine signifikant schlechtere glomeruläre Filtrationsrate und einen erhöhten Kreatininspiegel aufweisen, die Transplantatüberlebensprognose aber nicht signifikant verschlechtert ist [75]. Untersuchungen von Nyengaard et al. [77] machen zudem deutlich, daß die Anzahl der Nephrone unter den einzelnen Menschen sehr variabel ist. So zeigen die Ergebnisse eine Variabilität von 300.000 bis zu über 1 Million Nephrone bei 37 untersuchten normalen Nieren [77].

Berechnungen zur Transplantatüberlebensrate für adulte Empfänger mit kindlichen Spenderorganen machten im Rahmen dieser Untersuchung aufgrund der Patientenselektion (lediglich 2 der Spender waren jünger als 16 Jahre) keinen Sinn.

Wenn schon die Geschlechtskonstellationen als Parameter für die Transplantatprognose kontrovers diskutiert werden, kann dann wenigsten für das Spenderalter eine eindeutige Aussage getroffen werden? Auch in diesem Punkt sind die Ergebnisse widersprüchlich. Während Prommool et al. [84] in ihren Untersuchungen zeigen konnten, daß Empfänger, die ein Transplantat eines Spenders über 55 Jahre erhalten haben, eine schlechtere Langzeittransplantatüberlebensprognose haben, konnte diese Aussage im vorliegenden Kollektiv nicht bestätigt werden. Ein Grund hierfür liegt möglicherweise in dem mit 522 Patienten rund 5-fach größerem Kollektiv Prommools. Außerdem konnten Prommool et al. einen signifikanten Einfluß des Spenderalters erst bei Berechnungen der Langzeitprognose (> 5-Jahre) der Transplantate errechen; im Vergleich dazu lag der durchschnittliche Beobachtungszeitraum im vorliegenden Kollektiv bei 4,33 Jahre; dies war möglicherweise ein Grund dafür, so daß sich dieser Faktor nicht nachhaltig auf die Prognose auswirken konnte.

Darüber hinaus untersuchten Terasaki et al. [104] parallel zum Alter des Spenders auch das HLA-Matching. Postoperativ fielen bei Empfängern mit Organen älterer Spender signifikant häufiger klinische Komplikationen wie Anurie, erhöhter Kreatininserumwert und eine temporäre erforderliche Dialyse auf. Bei der Berechnung der Transplantatüberlebensraten hatten Empfänger mit perfektem HLA-Mismatch sowie junger Spenderorgane die beste Prognose. Des weiteren zeigte sich parallel mit steigendem HLA-Mismatch eine schlechtere Transplantatüberlebensrate, wobei Empfänger mit sehr alten Spenderorganen (Spenderalter  $\geq 60$  Jahre) unabhängig vom HLA-Mismatch eine schlechtere Prognose zu haben scheinen.

Die beiden Faktoren Empfänger-Spendergeschlecht und Spenderalter müssen sicherlich im Zusammenhang gesehen werden. So vermindert sich die Anzahl der funktionierenden Ne-

prone physiologischerweise im Alter von 1 Million auf um bis zu 25 % des Ausgangswertes, was für einen älteren Körper aber aufgrund des parallel verminderten Stoffwechsels ausreichend ist. Wird hingegen ein älteres Organ in einen jungen stoffwechselintensiven Körper transplantiert, so ist das Spenderorgan von der Leistung her unterdimensioniert. Dasselbe gilt auch für kleine Spenderorgane in einem einen „großen“ Organismus. Wird das transplantierte Organ dann zusätzlich z.B. durch immunologische Faktoren weiter geschädigt, so ist die Kompensationsfähigkeit bald aufgebraucht. Obwohl die Rolle der Empfänger-Spendergeschlechtes und des Spenderalters sicherlich noch weiterer Abklärung bedürfen, sollte ein Geschlecht-, Gewicht-, und Altersparallelisierung im Transplantationmanagement angestrebt werden.

Was die Anzahl der Blutkonserven angeht, beschrieben bereits 1968 Morris et al. [68] sowie 1973 Opelz et al. [78] einen kausalen Zusammenhang zwischen der Anzahl der benötigten Bluttransfusionen und dem Transplantatüberleben. So zeigten Beobachtungen der 1- und 5-Jahres Transplantatüberlebensrate, daß Patienten, denen mehr als 10 Blutkonserven intraoperativ transfundiert wurden, eine günstigere Prognose haben (1-Jahres Transplantatüberlebensprognose bei 10+ Bluttransfusionen: 66 % vs. keine Bluttransfusion: 29 %). Diese Erkenntnisse stehen allerdings im krassen Gegensatz zu den im Rahmen dieser Untersuchung ermittelten Ergebnissen. Patienten mit mehr als 10 Bluttransfusionen hatten in der univariaten Analyse eine signifikant schlechtere Transplantatüberlebensprognose. Diese deutliche Diskrepanz liegt sicherlich im schlechteren Allgemeinzustand einiger Patienten begründet, die einen therapeutisch notwendigen, erhöhtem Transfusionsbedarf aufwiesen. Die Beobachtungen von Opelz et al. [78] legten Mitte der 70iger Jahre den Schluß einer durch Bluttransfusionen induzierten Toleranzentwicklung des Empfängerorganismus gegen das Spenderorgan nahe. Seit Beginn der 80iger Jahre, d.h. seit Einführung einer intensivierte Immunsuppressionstherapie durch Cyclosporin A in den klinischen Alltag, konnten allerdings diese signifikanten Ergebnisse nicht mehr reproduziert werden [106]. Trotzdem schlagen neuerdings einzelne Autoren [30, 99] sogar vor, gekühlte Bluttransfusionen des Spenders dem Empfänger über einen Monat postoperativ zu transfundieren bzw. dem Empfänger Spenderleukozyten vor Transplantation zu verabreichen [76] um damit die später benötigte medikamentöse Immunsuppression zu reduzieren.

Ein weiterer wichtiger Faktor für die Prognose des Transplantats scheint die Kaltischämiezeit zu sein. Sie ist definiert als Zeitspanne zwischen der Abkühlung des Transplantats nach Explantation und dem Wiederaufwärmen direkt vor der Implantation in den Empfängerorganismus. Zum allergrößten Teil wird die Kaltischämiezeit durch die Transportstrecke zwischen dem Explantations- und dem Implantationsort bestimmt. Untersuchungen zur prognostischen Relevanz der Kaltischämiezeit konnten zeigen, daß sich mit ansteigender Zeitspanne die Prognose für das Transplantat verschlechtert [109, 82, 46, 14]. Dies konnte am untersuchten Kollektiv in dieser Form - erwartungsgemäß - nicht nachvollzogen werden, da in rund der Hälfte der untersuchten Fälle ein relativ konstantes Zeitfenster (20-25h) zwischen

Entnahme und Implantation des Organes eingehalten wurde. Um eine eventuelle Signifikanz zu erkennen wäre ein größeres, speziell auf diese Fragestellung zugeschnittenes Kollektiv, d.h. mit einer größeren zeitlichen Varianz zwischen Entnahme und Implantation, vonnöten gewesen.

Pathogenetisch werden zwei Mechanismen diskutiert. Zum einen kommt es trotz Kühlung des Gewebes bei längerdauernder Nicht-Perfusion zu Zelluntergängen mit der Folge einer Reduktion funktionierendem Nierenparenchyms [56]. Zum anderen steigt bei längerer Minder- oder Nicht-Perfusion des Gewebes die Konzentration von freien Radikalen an [56, 90, 115]. Bei anschließender Reperfusion kommt es nun zur Mobilisation, Anflutung und Konzentrierung freier Radikaler mit dem Resultat einer Schädigung des transplantierten Organes, in der gegenwärtigen Literatur unter dem Begriff „Reperfusionsschäden“ zusammengefaßt [49, 90]. Diese Zellschädigung wiederum induziert die Freisetzung verschiedenster proinflammatorischer Zytokine [51] und Adhäsionsmoleküle [50] - wichtige pathogenetische Faktoren in der Entwicklung akuter sowie chronischer Abstoßungsreaktionen.

Das HLA-Matching wird von vielen Autoren [19, 34, 102, 84] als wichtiger immunologischer Faktor für das Transplantatüberleben angesehen, konnte in der vorliegenden Untersuchung kein Zusammenhang zwischen einem schlechten HLA-Matching und der Verschlechterung der Prognose gesehen werden. Lediglich für die Gruppe mit HLA-A-Mismatch konnte ein Trend bezüglich der Verschlechterung der Prognose mit steigendem Mismatch berechnet werden, ohne daß jedoch eine Signifikanz erreicht wurde.

Diese Diskrepanz der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit denen anderer Publikationen [19, 34, 102, 84] mag zu einem großen Teil an der Auswahl des Kollektives liegen, welches vorrangig zwar nach personellen Parametern (Alter, Geschlecht) parallelisiert wurde, sekundär aber auch nach der Anzahl der Abstoßungsreaktionen und dem HLA-Mismatch. Leider waren die vorliegenden klinischen Angaben zum Teil sehr lückenhaft, sodaß von den 109 Patientendaten jeweils nur 80 (HLA-B und HLA-DR) bzw. 79 (HLA-A) Patienten ausgewertet werden konnten. Bei der Berechnung des Gesamt mismatches konnten vom Gesamtkollektiv lediglich 39 Patienten berücksichtigt werden, so daß bei dieser Auswertung schon rein statistisch keine Signifikanz zu erwarten war.

Prommool et al. [84] sind abweichend von anderen Autoren [19, 34] der Meinung, daß sich ein steigendes HLA-Mismatching lediglich in der Zunahme akuter Abstoßungsreaktionen äußert. Madore et al. [54] - wie auch viele andere Autoren [58, 57, 54, 38, 114]- konnten wiederum anhand einer multivarianten Analyse zeigen, daß die Anzahl der akuten Abstoßungsreaktionen einen entscheidenden Prädiktor für das Transplantatüberleben ist.

Die Bedeutung des HLA-Mismatches wird von Takemoto et al. [102] bestätigt, die an einem großen Kollektiv die Auswirkung des HLA-Matchings auf die Transplantatüberlebensprognose demonstrierten. So wurde der Verlauf von 7614 komplett HLA-gematched mit 81364 nicht-HLA-gemachten Transplantaten verglichen. Dabei wurde deutlich, daß die 10-Jahres Transplantatüberlebensrate bei den komplett HLA-gemachten Transplantaten bei 52 % lag, jedoch nur 37 % der nicht-HLA-gemachten Transplantate nach 10 Jahren noch funktionierte.

Des Weiteren zeigten die Berechnungen, daß das geschätzte mittlere Transplantatüberleben bei nicht-HLA-gematchten Organen auf 8.6 Jahre verkürzt war, im Gegensatz zu 12.5 Jahren bei komplett HLA-gematchten Transplantaten. Ergänzend dazu fanden Held et al. [35] bei ihrer Auswertung der 5-Jahres-Transplantatüberlebensraten von 30564 Nierentransplantierten einen zwar verhältnismäßig geringen, aber signifikanten Vorteil von 4,4 % zwischen komplett gematchten und nicht-gematchten Transplantaten. Sie demonstrierten darüberhinaus, daß sich die Transplantatüberlebensrate nicht linear mit steigendem HLA-Mismatch verschlechtert, sondern daß eine signifikante Verbesserung der Transplantatüberlebensrate nur für Transplantate mit einem Mismatch  $\leq 2$  erreicht werden kann.

Diese Ergebnisse demonstrieren die Wichtigkeit des HLA-Matchings als prognostischen Faktor für die Transplantatüberlebensprognose.

Die Wertigkeit der einzelnen HLA-Loki und deren Bedeutung für das immunologische Matching ist bis heute strittig. Connolly et al. sowie Opelz et al. [19, 79] konnten in ihren Arbeiten zeigen, daß der HLA-DR-Lokus für das Transplantatüberleben von besonderer Bedeutung zu sein scheint, die HLA-A- und HLA-B-Loki sollen hingegen eine untergeordnete Rolle spielen. Bei Opelz et al. [79] waren diese Erkenntnisse aber lediglich für die 1-Jahres-Transplantatüberlebensrate signifikant, für die Langzeitprognose ergaben sich zwischen den einzelnen HLA-Loki keine prägnanten Unterschiede mehr.

Inwieweit sich die einzelnen HLA-Loki beim HLA-Matching bezüglich der Transplantatprognose auswirken ist weiterhin Gegenstand der gegenwärtigen Forschung und Diskussion.

Aktuelle Studien beschäftigen sich zudem mit der Risikoabwägung einzelner Faktoren, insbesondere dem Verhältnis des HLA-Mismatch mit der Kaltischämiezeit [102, 91]. So sollte eine längere Kaltischämiezeit zugunsten eines optimierten HLA-Mismatches in Kauf genommen werden, da dies die Prognose des Transplantats entscheidend verbessert [102].

Weitere zu berücksichtigende Faktoren sind die Titer der panel-reaktiven Antikörper. Auch ihre Rolle in bezug auf die Transplantatüberlebensrate wird kontrovers diskutiert. So muß prinzipiell zwischen den Titern panel-reaktiver Antikörper prä-, und postoperativ sowie während des Nachsorgezeitraums differenziert werden. In der vorliegenden Untersuchung konnte zwar keine prognostische Differenz zwischen den Titern prä- und postoperativ gesehen werden, sehr wohl konnte aber ein signifikanter Unterschied zwischen hohen ( $> 33\%$ ) und niedrigen ( $\leq 33\%$ ) Titern im Rahmen der Nachsorge bestimmt werden, wonach Patienten mit hohen PRA-Titern eine schlechtere Prognose haben. Ergänzend demonstrierten Monteiro et al. [67] sowohl für hohe Titer ( $> 50\%$ ) PRA präoperativ als auch während des Beobachtungszeitraumes eine enge Korrelation mit klinischen Komplikationen (temporäre Dialyse) sowie einer schlechteren Transplantatüberlebenswahrscheinlichkeit. Creemers et al. [21] sehen in ihren Analysen sogar bereits in PRA-Titern  $> 10\%$  einen der wichtigsten prognostischen Faktoren für das Auftreten einer Abstoßungsreaktion [21]. Im Gegensatz dazu sind Mjornstedt et al. der Meinung, daß panel-reaktive Antikörper bis zu einem Titer von 50% keine nennenswerten Auswirkungen auf das Transplantatüberleben haben [66].

Nun zu den Infektionen; wie wirken sie sich auf die Transplantatprognose aus? Infektionen, seien sie nun bakterieller oder viraler Natur sind für das Transplantatüberleben von großer Bedeutung [29]. Ihre Rolle, insbesondere die einer CMV-Infektion, als auslösendes Agens bei Abstoßungsprozessen werden allerdings kontrovers diskutiert [28, 12, 107]. Obwohl im Rahmen dieser Untersuchung kein signifikanter Unterschied in der Transplantatüberlebensprognose CMV-positiver und CMV-negativer Empfänger nachgewiesen werden konnte, gibt es Arbeiten, die eine CMV-Infektion eng mit der Entwicklung eines chronischen Transplantatversagen sowie mit einer chronischen Transplantatvaskulopathie korrelieren konnten [113]. Eine mögliche Ursache wird in einer durch CMV unterhaltenen persistierenden Entzündungsreaktion gesehen [45]. Molekularbiologische Untersuchungen unterstützen diese Theorie durch den Nachweis einer gesteigerten Expression von Adhäsionsmolekülen und Wachstumsfaktoren sowohl im Interstitium, als auch in der Gefäßwand [52, 27]. Soderberg-Naucler et al. [97] zeigten in ihrer Arbeit, dass CMV aktiv die Migration und Proliferation von glatten Muskelzellen - wichtige pathogenetische Prozesse in der Entwicklung einer Transplantatvaskulopathie - aktiv unterstützen und unterhalten kann.

Als weitere wichtige Virusinfektion die im Rahmen der Immunsuppression auftritt ist vor allem die Reaktivierung des Epstein-Barr-Virus zu nennen. Diese werden nicht nur für die Akkzeleration der Abstoßungsprozesse verantwortlich gemacht, sondern sie spielen auch eine entscheidende Rolle in der Entstehung lymphatischer Neoplasien oder eines Karposi-Sarkoms. In den dieser Arbeit zugrunde liegenden 109 untersuchten Fällen wurde allerdings kein einziger Patient mit transplantationsassoziiertem lymphoproliferativem Neoplasie und/oder Karposi-Sarkom beobachtet.

Neben viralen Infektionen spielen auch bakterielle Infekte eine wichtige Rolle für das Transplantatüberleben. Transplantierte Nieren sind einerseits aufgrund der immunsuppressiven Therapie besonders anfällig für bakterielle Infekte andererseits ist bei transplantierten Patienten während der Miktion ein ureteraler Reflux kontaminierten Urins häufig, da die chirurgischen Ureteranastomosen aus der Blase oft keinen hinreichenden Schutz bilden. Daher sind Harnwegsinfekte bei Transplantierten häufiger und führen aufgrund der Immunsuppression öfter zu schweren Krankheitsbildern in Form einer bakteriellen oder fungiden Urosepsis [83, 48].

In der aktuellen Literatur werden noch viele weitere Faktoren mit eventueller prognostischer Relevanz diskutiert. So könnten etwa der Body-Mass-Index oder das Vorliegen eines Hirntodes des Spenders Einfluß auf das Transplantatüberleben haben. Da es sich bei dem vorliegenden Kollektiv z.T. um 15 Jahre alte Fälle handelte, konnten Angaben zu diesen Parametern aus der Krankengeschichte nicht mehr zuverlässig rekonstruiert und ausgewertet werden.

Während die oben genannten morphologischen und klinischen Parameter in den letzten Jahren ausführlich hinsichtlich ihren immunologischen und nicht-immunologischen Pathomecha-

nismen sowie auf ihrer mögliche prognostische Bedeutung hin untersucht wurden, konnten nur wenige Autoren Angaben zur prognostischen Relevanz plasmazellreicher Abstoßungsreaktionen machen.

Wie die vorliegende Arbeit erstmals an einem solch umfassenden Kollektiv beweisen kann, haben Patienten mit plasmazellreichen Abstoßungsreaktionen eine signifikant schlechtere Prognose. Diese Aussage muß jedoch für akute plasmazellreiche und chronisch plasmazellreiche Abstoßungsreaktion separat betrachtet werden. So haben Patienten mit akuten plasmazellreichen Verläufen, übereinstimmend mit Untersuchungen von Meehan et al. [63], zwar keine signifikant schlechtere Transplantatüberlebensprognose, sehr wohl aber Patienten mit chronisch plasmazellreichen Verläufen. Charney et al. [16] hingegen konnten in ihrem Kollektiv auch für akute plasmazellreiche Abstoßungsreaktionen eine schlechtere Transplantatüberlebenprognose im Vergleich zu nicht-plasmazellreichen Abstoßungsreaktionen berechnen. Dies mag sicherlich daran liegen, daß Charney et al. [16] sich nur mit akuten Abstoßungsprozessen beschäftigt haben und chronische plasmazellreiche Fälle anscheinend nicht berücksichtigt haben; werden ihre Ergebnisse jedoch genauer betrachtet, wo fällt auf, daß 8 Patienten, die dem plasmazellreichen Kollektiv mit akuten Abstoßungsreaktionen zugerechnet wurden, histologisch bereits Merkmale einer chronischen Nephropathie aufwiesen. Solche Fälle wurden in der vorliegenden Arbeit als chronisch plasmazellreich gewertet. Ein direkter Vergleich der Ergebnisse ist somit nicht möglich.

Vergleichsarbeiten zur Transplantatprognose bei chronisch plasmazellreichen Verläufen liegen in der gegenwärtigen Literatur bisher nicht vor. Diese Arbeit verdeutlicht aber, daß chronisch plasmazellreiche Fälle eine signifikant schlechtere Prognose im Vergleich zu chronisch nicht-plasmazellreichen Fällen haben. Dies wirkt sich auch signifikant auf die schlechtere Prognose der plasmazellreichen Fälle im Gesamtkollektiv aus.

Sämtliche Auswertungen plasmazellreicher Fälle in Bezug auf das Transplantatüberleben basieren in der aktuellen Literatur auf univarianten Analysen. Um nun eine Wertigkeit der einzelnen Faktoren zu ermitteln, wurden in der vorliegenden Auswertung zusätzlich zu den univariaten, erstmalig multivariante Analysen durchgeführt. Dabei war insbesondere die Rangordnung plasmazellreicher Abstoßungsreaktion in Relation zu einer VAR von Interesse, da zwischen diesen beiden Faktoren häufig ein histologisch zu beobachtende Assoziation bestand.

Dabei zeigte sich in der differenzierten Auswertung folgendes Bild: Plasmazellreiche Abstoßungsprozesse als eigenständige Entität haben keinen signifikanten Einfluß auf eine schlechtere Prognose; die in der univarianten Analyse gezeigte Prognoseverschlechterung wird eindeutig durch die häufige Assoziation mit vaskulären Abstoßungsprozessen bestimmt.

Diese Aussage wird durch die multivariate Analyse bestätigt, nach der ausschließlich die vaskuläre Abstoßungsreaktion als relevanter unabhängiger Prognosefaktor für das Transplantatüberleben bestimmt werden konnte. Plasmazellreiche Infiltrate sind durch ihre häufige Assoziation mit einer VAR aber als Indikator einer schlechten Prognose anzusehen.

Pathogenetisch scheinen in plasmazellreichen Fällen neben der zellulären vor allem auch

humorale Mechanismen zum Tragen zu kommen. Die auffällig häufige Lokalisation der Plasmazellen perivaskulär und periglomerulär ist möglicherweise Ausdruck einer Dominanz humoraler Immunmechanismen gegen das Gefäßendothel.

Bei der Diagnose plasmazellreicher Infiltrate sind viele Fragen noch offen, so ist prinzipiell zu klären, warum sie auftreten, im weiteren Verlauf oftmals wieder rückläufig sind oder gar ganz verschwinden; zudem ist unklar, ob es sich überhaupt um die Abstoßungsreaktion handelt. Differentialdiagnostisch kommt bei der Diagnose plasmazellreicher Infiltrate eine medikamentös-induzierte Hypersensitivitätsreaktion oder eine Nephritis als Reaktion auf extrarenal ablaufende Infektionen in Frage.

Bei der Auswertung der klinischen Daten zeigten sich jedoch keine Unterschiede in der Medikamentenanamnese zwischen Patienten des plasmazellreichen und des Kontrollkollektives, so daß ein Zusammenhang zwischen Medikamenteneinnahme und Plasmazellreichtum ausgeschlossen scheint.

Auch bezüglich des Infektionsstatus zwischen Patienten mit plasmazellreichen und nicht-plasmazellreichen Verläufen ließ sich anamnestisch kein signifikanter Unterschied erkennen. Da jedoch eine Infektion oder Reaktivierung von Herpes-Viren eine plasmazellreiche Immunreaktion induzieren bzw. eine plasmazellreiche Abstoßungsreaktion imitieren kann, wurde dieser mögliche Pathomechanismus separat verifiziert.

Wie bereits durch mehrere Autoren beschrieben [37, 16, 63] kann es bedingt durch die notwendige Immunsuppression nach Organtransplantation zu einer Reaktivierung von Herpesviren - insbesondere des Epstein-Barr-Virus - kommen, die im histologischen Bild einer plasmazellreichen Abstoßungsreaktion ähneln kann [16, 63]. Um dieser Frage nachzugehen, wurden jeweils mehrere Biopsien mit plasmazellreichen und nicht-plasmazellreichen Abstoßungsreaktionen molekularbiologisch untersucht. Dabei zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen plasmazellreichen und nicht-plasmazellreichen Fällen weder für EBV, CMV, HHV-6, noch für HSV-1 und HSV-2. Dies deckt sich auch mit Untersuchungen von Charney et al. und Meehan et al. [16, 63], die in ihren Kollektiven ebenfalls keine Assoziation zwischen Plasmazellreichtum und einer EBV-Infektion sehen konnten. Ebenso wie Charney et al. [16] konnte auch in dieser Untersuchung keine lymphoproliferative Neoplasie nach Transplantation in den Fällen mit plasmazellreichen Abstoßungsreaktionen beobachtet werden.

Auch spricht die nachgewiesene Poliklonalität der untersuchten Plasmazellinfiltrate gegen eine durch Reaktivierung von Herpes-Viren induzierte Plasmazellproliferation.

Während bei Abstoßungsreaktionen im allgemeinen zelluläre Mechanismen in Form von CD4<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup>-T-Lymphozyten und Makrophagen das morphologische Bild bestimmen, sind Plasmazellen Ausdruck einer humoralen Immunreaktion. Nach Kenntnissen der allgemeinen Immunologie erfolgt eine humorale Immunantwort durch die Aktivierung der B-Zellen mittels Zytokinen, die vor allem durch CD4<sup>+</sup>-Th2-Zellen sezerniert werden, dies bedeutet, das bei plasmazellreichen Abstoßungsreaktionen ein Shift einer Th1- nach Th2-Immunantwort erfolgt, parallel mit Veränderung des Zytokinprofils. Wie kommt es nun zu diesem Shift der Immunantwort ?

Leider läßt sich diese Frage nicht eindeutig beantworten. Aktuelle Studien weisen aber darauf hin, daß neben den klassischen costimulatorischen Faktoren (Signal 2) der T-Zell-Aktivierung (CD28-B7, CD40-CD154), ICOS (inducible co-stimulator), ein erst kürzlich entdeckter co-stimulatorischer Faktor [20, 40] und dessen Ligand (B7RP-1) eine wichtige Rolle bei Abstoßungsprozessen zu spielen scheinen. So zeigten Arbeiten von Özkaynak et al. [80], daß es selbst bei Blockade des CD28-B7 und des CD40-CD154 Weges zu einer Aktivierung der T-Zellen mit dem Resultat einer Abstoßungsreaktion kommt. Gleichzeitig kam es bei den untersuchten Fällen zu einer Expression von ICOS/B7RP-1. Dies bedeutet, daß ICOS/B7RP-1 für die Initiierung einer Abstoßungsreaktion, experimentell sowohl für akute als auch chronische Abstoßungsreaktionen nachgewiesen [80], eine wichtige Rolle zu spielen scheint, da bei Blockade des ICOS/B7RP-1 Weges mittels spezifischer Antikörper keine Abstoßungsreaktion auftrat. McAdam et al. [60] beobachteten im Rahmen ihrer tierexperimentellen Untersuchungen, daß ICOS vor allem die Th2-, im geringeren Maße auch die Th1-T-Lymphozyten stimuliert. Daraus folgt, daß in Fällen, in denen die T-Zell-Aktivierung über den ICOS/B7RP-1 Weg erfolgt, signifikant mehr Th2-T-Lymphozyten aktiviert werden, die ihrerseits wiederum über Zytokine B-Zellen in den Abstoßungsprozeß involvieren und ihre Transformation in Plasmazellen induzieren.

Möglicherweise ist dieser Weg der Pathogenese bei plasmazellreichen Abstoßungsreaktionen relevant, d.h. dem sekundären Shift einer Th1- nach Th2-Reaktionen geht ein primärer Shift im T-Zell-Aktivierungs-Profil voraus, vom klassischen CD28/B7 oder CD40/CD154 zu ICOS/B7RP-1.

Ein anderer pathogenetischer Aspekt ist eine B-Zell-Aktivierung ohne die Hilfe von Th2-Helfer-Lymphozyten. Dieser „T-cell-independant“ genannte Weg der B-Zell-Aktivierung wird durch spezielle, sogenannte Typ-2-Antigene ausgelöst, die über eine multivalente Bindung mit Oberflächenstrukturen der B-Zellen reagieren [112]. Die Aktivierung der B-Zelle erfolgt über eine funktionale Bruton's tyrosine kinase (Signal 1), sowie costimulatorisch über Toll-like-Rezeptoren (Signal 2) [112]. Als Auslöser einer „T-cell-independant“ B-Zell-Aktivierung konnten bis dato nur bakterielle und virale Antigene nachgewiesen werden, ein Antigen-nachweis im Rahmen von Abstoßungsreaktionen steht noch aus. Obwohl Typ-2-Antigene *in vivo* eine starke Antikörperproduktion induzieren können, konnten diese Beobachtungen *in vitro* ohne zusätzliche Gabe von Zytokinen oder gleichzeitiger Stimulation über Toll-like-Rezeptoren bisher nicht reproduziert werden [23]. Eine abschließende Aussage, in wie fern der Weg einer „T-cell-independant“ B-Zell-Aktivierung in Abstoßungsreaktionen, insbesondere auch in plasmazellreichen Abstoßungsreaktionen, von Relevanz ist, ist noch nicht möglich, zumal *in vivo* Untersuchungen noch fehlen.

## **4.1 Konklusion**

Plasmazellreiche Infiltrate stellen als eigenständige Entität - wie die multivariate Analyse beweist - keinen unabhängigen prognostischen Faktor für die Transplantatprognose dar, sie sind

aber wegen ihrer engen Korrelation mit vaskulären Abstoßungsprozessen als indikativ anzusehen und somit als sekundärer Prädiktor eines ungünstigen Verlaufes zu werten. Obwohl im Rahmen dieser Studie einige Parameter, sowohl histologischer (VAR, TGP, plasmazellreiche Infiltrate) als auch klinischer Natur (Anzahl der Bluttransfusionen, Titer panel-reaktive Antikörper nach NTx) in der univariaten Analyse als signifikante Faktoren für eine schlechte Transplantatprognose ermittelt wurde, konnte diese Signifikanz in der multivariaten Analyse lediglich für die vaskuläre Abstoßungsreaktion belegt werden. Die VAR ist damit der entscheidende Parameter für die Prognose des Transplantats.

Bezüglich der Pathogenese plasmazellreicher Abstoßungsprozesse muß von einem Wechsel der Immunantwort von zellulären Mechanismen hin zu einem B-Zell-abhängigen Immunmechanismus ausgegangen werden, d.h. von einem Shift einer Th1- nach Th2-Immunantwort, inklusive einer Änderung des Zytokinprofils. Dieser Shift scheint jedoch nicht durch Herpesviren, insbesondere nicht durch EBV, induziert zu sein. Möglicherweise ist dafür die vermehrte Expression des inducible costimulators (ICOS) auf T-Zellen verantwortlich, der neben den klassischen costimulatorischen Faktoren (CD28-B7 und CD40-CD154) bei der Aktivierung der T-Zellen eine wichtige Rolle zu spielen scheint. Aktuelle experimentelle Untersuchungen zeigen, daß bei diesem „alternativen“ Aktivierungsweg vor allem Th2-T-Lymphozyten stimuliert werden, was letztlich über die Freisetzung von IL-4 und IL-10 zu einer Stimulation und zu einer Differenzierung der B-Zellen zu Plasmazellen führt.

## **5 Zusammenfassung**

Die für das Transplantatüberleben prognostisch entscheidenden Abstoßungsprozesse sind morphologisch durch interstitielle, sowie durch eine potentielle vaskuläre und/oder glomeruläre (Transplantatglomerulopathie) Abstoßungsreaktionen charakterisiert. Normalerweise bestehen die interstitiellen Infiltrate aus unterschiedlich dicht gelagerten Lymphozyten und Makrophagen, wobei die Quantität der Infiltrate die Schwere der Abstoßungsreaktion bestimmt. In der Routinediagnostik von Transplantatbiopsien und Explantaten findet sich in 14,6 % der Fälle jedoch ein auffallend hoher Plasmazellanteil.

In der vorliegenden Untersuchung an Nierenbiopsien und Explantaten wird zur Morphologie, Klinik, klinisch-morphologischer Korrelationen, Prognose und Pathogenese plasmazellreicher Abstoßungsreaktionen Stellung genommen.

Die Erhebung der Daten erfolgte an Präparaten aus dem Nierenregister des Institutes für Pathologie der Universität Tübingen, die im Zeitraum 1985 - 1998 eingegangen sind. Insgesamt wurde der Verlauf von 109 Patienten mit 356 Biopsien (von der Mehrzahl der Patienten lagen mehrere Biopsien vor) und 42 Explantaten ausgewertet. Das Gesamtkollektiv wurde zur repräsentativen Analyse in 2 Hauptgruppen (plasmazellreich [53 Patienten] versus nicht-plasmazellreich [56 Patienten]) und jeweils 2 Untergruppen (akute, plasmazellreiche Abstoßungsreaktion [27 Patienten]; chronische, plasmazellreiche Abstoßungsreaktion [26 Patienten]; akute, nicht-plasmazellreiche Abstoßungsreaktion [30 Patienten]; chronische, nicht-plasmazellreiche Abstoßungsreaktion [26 Patienten]) gegliedert. Um gleiche Verhältnisse bei der Beurteilung zu gewährleisten, wurden die Kollektive untereinander nach Anzahl der Abstoßungsreaktionen, Geschlecht und Alter der Patienten sowie nach Anzahl der Biopsien parallelisiert.

Um eine Biopsie als plasmazellreich zu definieren, wurden die interstitiellen Infiltrate von 10 zufällig gewählten Gesichtfeldern mittels Morphometrie bestimmt und der durchschnittliche Plasmazellgehalt ermittelt. Bei einem prozentualen Anteil >20 % wurde die Biopsie als plasmazellreich gewertet.

Nach der allgemeinen Definition der verschiedenen Abstoßungsreaktionen folgt ein ausführlicher morphologischer Teil, in der die obligate interstitielle Abstoßungsreaktion in ihren unterschiedlichen Schweregraden in der akuten und chronischen Form beschrieben wurde. Darüber hinaus wird in den morphologischen Untersuchungen auf potentiell vorliegende vaskuläre und/oder glomeruläre Abstoßungsprozesse eingegangen, sowie die Verteilung der Infiltrate (diffus oder fokal), in der plasmazellreichen Gruppe auch die Lokalisation der Plasmazellen, bezogen auf die verschiedenen Parenchymstrukturen, berücksichtigt. In der morphologischen Auswertung aller histologischen Präparate - von der Mehrzahl der Patienten lagen entsprechend ihrem Krankheitsverlauf mehrere Biopsien vor - zeigte sich in 23% der Biopsien und Explantate neben der obligaten interstitiellen Abstoßungsreaktion zusätzlich eine vaskuläre

Abstoßungsreaktion sowie in 20% eine Transplantatglomerulopathie. Betrachtet man die Häufigkeit der vaskulären Abstoßung und der Transplantatglomerulopathie auf den Patienten bezogen, liegt der Prozentsatz logischerweise höher. So konnte bei 47% der Patienten des Gesamtkollektives eine vaskuläre Abstoßungsreaktion diagnostiziert werden, für die Transplantatglomerulopathie lies sich eine Häufigkeit von 37% bestimmen. Das gleichzeitige Auftreten einer vaskulären und glomerulären Abstoßungsreaktion oder die Entwicklung dieser beiden Abstoßungsphänomene im weiteren Krankheitsverlauf konnte in 25% aller Patienten beobachtet werden. Bei 59% der Patienten mit plasmazellreichen Abstoßungsprozessen war eine vaskuläre und/oder glomeruläre Abstoßungsreaktion signifikant häufiger diagnostizierbar als bei Patienten ohne plasmazellreiche Abstoßungsreaktionen.

Bei der morphologisches Auswertung des plasmazellreichen Kollektives wurde hinsichtlich der Lokalisation der Plasmazellen zudem deutlich, daß die Infiltrate mit steigender Quantität gehäuft perivaskulär und periglomerulär lokalisiert auftreten.

Bei der Analyse klinischer Daten, sowohl für das Gesamtkollektiv, als auch für das plasmazellreiche Kollektiv, wurden Angaben über Alter und Geschlecht des Empfängers und Spenders, HLA-Matching, Titer panel-reaktiver Antikörper, Kaltischämiezeit sowie über die Anzahl intra- und postoperativer Bluttransfusionen ausgewertet, wobei zwischen dem plasmazellreichen und nicht-plasmazellreichen Kollektiv keine signifikanten Unterschiede zu ermitteln waren.

Bei der Bestimmung potentiell relevanter prognostischer Parameter für die Transplantatüberlebensprognose wurden neben dem Plasmazellreichtum an sich folgende Faktoren untersucht: Die potentielle Manifestation einer vaskulären  $\pm$  glomerulären Abstoßungsreaktion, Grunderkrankung, Alter, Geschlecht sowie CMV-Status des Empfängers und Spenders, Blutdruck des Spenders bei NTx als Ausdruck der Durchblutung des Transplantates, das HLA-Matching (HLA-A, HLA-B, HLA-DR und Gesamtmismatch), intraoperative Anzahl der Bluttransfusionen, Kaltischämiezeit, sowie die Titer panel-reaktiver Antikörper vor, unmittelbar nach NTx und im weiteren Beobachtungsverlauf. Eine prognostische Signifikanz der verschiedenen morphologischen und klinischen Parameter wurde mittels univariater Analysen ermittelt. Zusätzlich wurde zur Abhängigkeitsprüfung der Faktoren eine multivariaten Analyse durchgeführt.

Patienten mit plasmazellreichen Abstoßungsreaktionen haben eine signifikant schlechtere Transplantatüberlebensprognose [Chi<sup>2</sup>: p=0.0024], wobei dies bei detaillierterer Betrachtung nicht für akute plasmazellreiche Fälle [Chi<sup>2</sup>: p=0.5636], sondern nur für chronisch plasmazellreiche Abstoßungsprozesse [Chi<sup>2</sup>: p=0.0148] gilt. Daneben konnten eine vaskuläre Abstoßungsreaktion [Chi<sup>2</sup>: p<0.0001], eine Transplantatglomerulopathie [Chi<sup>2</sup>: p=0.0002], 10+ Bluttransfusionen intra-/postoperativ [Chi<sup>2</sup>: p=0.04], ein maximaler Titer panel-reaktiver Antikörper nach NTx über 33 % [Chi<sup>2</sup>: p<0.05] als weitere signifikante Einflußgrößen für eine schlechte Transplantatüberlebensprognose mittels univariater Analyse identifiziert werden, die anderen untersuchten Faktoren zeigten keinen signifikanten Einfluß auf das Transplan-

tatüberleben. Wie die multivariate Analyse verdeutlicht, muß die prognostische Relevanz plasmazellreicher Infiltrate auf die signifikant häufigere Assoziation mit vaskulären Abstoßungsreaktionen zurückgeführt werden. Dies bedeutet, daß der Plasmazellreichtum in einer interstitiellen Abstoßungsreaktion zwar nicht als eigenständiger unabhängiger prognostischer Parameter angesehen werden kann, jedoch, durch die häufige hochsignifikante Assoziation mit einer vaskulären Abstoßungsreaktion indessen als Indikator und damit als indirekter Prädiktor zu werten ist.

Um die Frage einer etwaigen pathogenetischen Bedeutung von Herpes-Viren in der Entwicklung plasmazellreicher Abstoßungsprozesse zu beantworten, wurden molekularbiologische Untersuchungen zum Nachweis von Herpes-Virus-Genom (EBV, CMV, HSV-1, HSV-2, HHV-6) durchgeführt. Dazu wurden jeweils randomisiert ausgewählte Biopsien aus allen Kollektiven mittels nested PCR untersucht. Sämtliche PCRs wurden nach standardisierten Laborprotokollen durchgeführt. In den Untersuchungen konnte für keinen Virustyp ein signifikanter Unterschied zwischen dem plasmazellreichen und nicht-plasmazellreichen Kollektiv hinsichtlich einer stattgefundenen Infektion demonstriert werden.

Im Hinblick auf die Pathogenese plasmazellreicher Abstoßungsprozesse muß von einem Wechsel der Immunantwort hin zu einem B-Zell-abhängigen Immunmechanismus ausgegangen werden, d.h. von einem Shift einer Th1- nach Th2-Immunantwort, inklusive einer Änderung des Zytokinprofils. Dieser Shift scheint jedoch nicht durch Herpesviren induziert zu sein, insbesondere nicht durch EBV. Möglicherweise ist dafür die vermehrte Expression des inducible costimulators (ICOS) auf T-Zellen verantwortlich, der neben den klassischen costimulatorischen Faktoren (CD28-B7 und CD40-CD154) bei der Aktivierung der T-Zellen eine wichtige Rolle zu spielen scheint. Aktuelle experimentelle Untersuchungen zeigen, daß bei diesem „alternativen“ Aktivierungsweg neben Th1-, vor allem Th2-T-Lymphozyten stimuliert werden, was letztlich über die Freisetzung von IL-4 und IL-10 zu einer Stimulation und zu einer Differenzierung der B-Zellen zu Plasmazellen führt.

## A Auswahl der Gesichtsfelder

Folgendes Computerprogramm berechnet aus einem 2-dimensionalem Array 10 zufällige Gesichtsfelder. Da das Programm nach ANSI<sup>3</sup> Konventionen geschrieben ist, sollte es unter jedem ANSI-Kompatiblen C/C++ System kompilierbar sein. Getestet wurde es auf AMIGA-Systemen[[www.amiga.com](http://www.amiga.com)] mit StormC, Version 3.0 © Haage-Partner GmbH [[www.haage-partner.com](http://www.haage-partner.com)] sowie gcc, Version 2.9.0 [[www.gnu.org/software/gcc/](http://www.gnu.org/software/gcc/)]

```

/*
** Gesichtsfelder.c
**
** wählt zufällig 10 Gesichtsfelder aus einem 2-dimensionalem Array
** variabler Größe
** (C) 1998 Thomas Eigentler
**
*/

#include <stdio.h>
#include <stdlib.h>
#include <time.h>

/*
** Anmerkung: Folgender Algorithmus wurde in modifizierter Form
** entnommen aus: Kernighan, B.W.; Ritchie, D.M.:
** The C Programming Language, Second Edition, ANSI C
** (C) 1988, 1978 by Bell Telephone Laboratories, Incorporated
**
** Angeregt durch ein Demo-Programm aus:
** SAS Institute Inc., SAS/C Development System Library Reference,
** Version 6.50, Cary, NC:
** SAS Institute Inc, 1993. 733 pp.
**
*/

```

---

<sup>3</sup>ANSI - American National Standards Institute

```
int myrand(int max) {
    long x;
    int zufall;

    x = time(NULL);
    srand(x);
    zufall = rand();
    return zufall % max;
}

/*
**
** Hauptprogramm
**
*/

void main() {
    int Gesichtsfelder_Vertikal;
    int Gesichtsfelder_Horizontal;
    int Gesichtsfelder[10];
    int i,x;

    printf("Anzahl der vertikalen Gesichtsfelder: ");
    scanf("%d",&Gesichtsfelder_Vertikal);

    printf("Anzahl der horizontalen Gesichtsfelder: ");
    scanf("%d",&Gesichtsfelder_Horizontal);

    if((Gesichtsfelder_Vertikal*Gesichtsfelder_Horizontal)<10) {
        printf("Es können weniger als 10 Gesichtsfelder
        bestimmt werden !\n");
        exit(0);
    }
}
```

```
else {
    printf("Auswahl 10 zufällig gewählter Gesichtsfelder aus %d
    Gesichtsfeldern \n", Gesichtsfelder_Vertikal*
    Gesichtsfelder_Horizontal);
}

for(i=0;i<=9;i++) Gesichtsfelder[i] = 0;

for(x=0;x<=9;x++) {

    int Zufall;
    int ok = (int)0;

    do {
        Zufall = myrand(Gesichtsfelder_Vertikal*
        Gesichtsfelder_Horizontal)+1;
        for(i=0;i<x;i++) {
            if(Gesichtsfelder[i] == Zufall) break;
        }
        if(i==x) {
            Gesichtsfelder[x] = Zufall;
            ok = 1;
        }
    } while (ok==0);

}

printf("Es wurden folgende Gesichtsfelder ausgewählt:\n");
for(i=0;i<=9;i++) printf("%d\n", Gesichtsfelder[i]);
}
```

**B** **Abbildungsverzeichnis**

1.	<b>Kollektive</b> - Einteilung nach Abstoßungsreaktion und Plasmazellreichtum . . . . .	10
2.	<b>Erhebungsbogen</b> - morphologische Befunde . . . . .	15
3.	<b>Schema - Bestimmung der Gesichtsfelder</b> ; die maximale Anzahl der Gesichtsfelder wird durch Auszählung mittels Zähllokkular in der horizontalen und vertikalen Ausrichtung ( $x \cdot y$ ) bestimmt. Sie ist die Eingabegröße für das Computerprogramm. . . . .	17
4.	<b>Erhebungsbogen</b> - Klinische Parameter des Spenders zum Zeitpunkt der Transplantation . . . . .	18
5.	<b>Erhebungsbogen</b> - Daten des Empfängers zum Zeitpunkt der NTx, sowie Parameter zur Empfänger-Spenderkonstellation . . . . .	19
6.	<b>Erhebungsbogen</b> - Klinische Parameter des Empfängers zum Zeitpunkt der Biopsie . . . . .	20
7.	<b>Übersicht der histologischen Befunde</b> - Einteilung in keine, akute und chronische Abstoßung. Graduierung erfolgte nach den geschilderten Definitionen [Absatz 2.2, Seite 11] . . . . .	25
8.	<b>Akute interstitielle Abstoßungsreaktion</b> - Das Interstitium ist überwiegend von Lymphozyten durchsetzt, PAS-Reaktion . . . . .	30
9.	<b>Akute interstitielle Abstoßungsreaktion, Tubulitis</b> - Eingewanderte Lymphozyten mit Destruktion der Tubulusepithelien, Immunhistologie: PAP-Reaktion . . . . .	30
10.	<b>Akute vaskuläre Abstoßungsreaktion</b> - Bild einer transmuralen Arteriitis, Lichtmikroskopie: PAS-Reaktion . . . . .	31
11.	<b>links - Transplantatglomerulopathie</b> , akutes Stadium (Frühstadium) mit Endotheldestruktion und eingewanderten Rundzellen (Makrophagen und Lymphozyten), PAS-Reaktion; <b>rechts - Nachweis von T-Lymphozyten</b> , Immunhistologie; PAP-Methode . . . . .	31
12.	<b>Chronisch interstitielle Abstoßungsreaktion</b> - interstitielle Fibrose mit interstitiellen Infiltraten und Tubulusatrophie, PAS-Reaktion . . . . .	32
13.	<b>links - Chronisch vaskuläre Abstoßungsreaktion</b> , konzentrische Verdickung der Intima mit Stenosierung, Lamininfärbung <b>rechts - Chronische Transplantatglomerulopathie</b> , Basalmembranneubildungsprozesse im subendothelialen Bereich, Phänomen der Doppelkonturierung, PAS-Reaktion . . . . .	32
14.	<b>Akute plasmazellreiche interstitielle Abstoßungsreaktion</b> - Das Interstitium ist von Plasmazellen durchsetzt, PAS-Reaktion . . . . .	33
15.	<b>Akute plasmazellreiche Abstoßungsreaktion</b> - Perivaskuläre Lokalisation der Plasmazellinfiltrate bei zusätzlicher vaskulärer Abstoßung, PAS-Reaktion . . . . .	33
16.	<b>Akute plasmazellreiche interstitielle Abstoßungsreaktion</b> - Plasmazellen in periglomerulärer Lokalisation, PAP-Reaktion . . . . .	34
17.	<b>Chronische plasmazellreiche interstitielle Abstoßungsreaktion</b> - Fibrotisch verändertes Interstitium mit plasmazellreichen Infiltraten, PAP-Reaktion . . . . .	34
18.	<b>Chronische plasmazellreiche Abstoßungsreaktion</b> - Perivaskuläre Lokalisation der Plasmazellinfiltrate bei zusätzlicher vaskulärer Abstoßungsreaktion, Immunhistologie . . . . .	35

19.	<b>Chronische plasmazellreiche interstitielle Abstoßungsreaktion</b> - Interstitielle Fibrose mit plasmazellreichen Infiltraten, teils periglomerulär lokalisiert zusätzlich Zeichen einer chronischen Transplantatglomerulopathie, PAP-Reaktion . . . . .	35
20.	<b>Herpes-Viren</b> - positive und negative Proben von Herpes-Viren-DNA. P (Probe) repräsentiert das jeweilige Fallbeispiel, $\ominus$ die Negativkontrolle, $\oplus$ die entsprechende Positivkontrolle, M stellt den Längenmarker ( $\phi$ X DNA, HaeIII) dar. . . . .	36
21.	<b>Transplantatüberlebensrate</b> - Vergleich zwischen dem Gesamtkollektiv sowie der Kollektive mit akuter interstitieller (Gruppe Ia+IIa) und chronischer interstitieller Abstoßungsreaktion (Gruppe Ib+IIb) . . . . .	37
22.	<b>Transplantatüberlebensrate</b> - Vergleich der Fälle mit und ohne Plasmazellreichtum (Gruppe I vs. Gruppe II) . . . . .	38
23.	<b>Transplantatüberlebensrate</b> - Vergleich der Prognose zwischen akuten Abstoßungsprozessen mit plasmazellreichen (Gruppe Ia) und nicht-plasmazellreichen (Gruppe IIa) Infiltraten . . . . .	39
24.	<b>Transplantatüberlebensrate</b> - Vergleich der Prognose zwischen chronischen Abstoßungsprozessen mit (Gruppe Ib) und ohne (Gruppe IIb) Plasmazellreichtum . . . . .	40
25.	<b>Transplantatüberlebensrate</b> - Vergleich der Prognose für Patienten mit vaskulären und ohne vaskulären Abstoßungsprozessen . . . . .	40
26.	<b>Transplantatüberlebensrate</b> - Vergleich der Prognose für Patienten mit und ohne Transplantatglomerulopathie . . . . .	41
27.	<b>Transplantatüberleben</b> - Vergleich der Prognose für Patienten mit einer vaskulären Abstoßungsreaktion $\pm$ Plasmazellreichtum . . . . .	41
28.	<b>Spenderalter</b> - Einteilung der Spender in Abhängigkeit des Alters . . . . .	42
29.	<b>Grunderkrankungen</b> - Ursache der terminalen Niereninsuffizienz im Gesamtkollektiv . . . . .	43
30.	<b>Empfänger-Spenderkonstellation</b> . . . . .	45
31.	<b>Transplantatüberlebensrate</b> - Vergleich der Prognose zwischen Empfängern mit bis zu 10 und Empfängern mit mehr als 10 Blutkonserven . . . . .	46
32.	<b>Kaltischämiezeit</b> - Einteilung in Gruppen abhängig von der Dauer der Kaltischämiezeit . . . . .	47
33.	<b>HLA-Mismatch</b> - Durchschnittliches Mismatching im Gesamtkollektiv . . . . .	48
34.	<b>Panel-reaktive Antikörper</b> - Einteilung der Patienten (P) in drei Gruppen, nach dem maximalen Titer panel-reaktiver Antikörper nach NTx ( $< 33\%$ , $> 33\% < 66\%$ , $> 66\%$ ) . . . . .	48
35.	<b>Panel-reaktive Antikörper</b> - Mittelwerte panel-reaktiver Antikörper-Titer in den drei Gruppen: vor und nach NTx, sowie der Maximaltiter während der Nachsorge . . . . .	49
36.	<b>Transplantatüberlebensrate</b> - Analyse der Transplantatüberlebensprognose von Patienten mit niedrigen, mittleren und hohen Titern panel-reaktiver Antikörper innerhalb der 1. Woche nach NTx . . . . .	49

## C Tabellenverzeichnis

1.	<b>Immunhistologische Färbungen</b> - verwendete Antikörper . . . . .	16
2.	<b>Produkte und Hersteller</b> . . . . .	22
3.	<b>HCMV</b> - Protokoll der PCR-Untersuchungen . . . . .	22
4.	<b>EBV</b> - Protokoll der PCR-Untersuchungen . . . . .	23
5.	<b>HHV6</b> - Protokoll der PCR-Untersuchungen . . . . .	23
6.	<b>HSV-1</b> - Protokoll der PCR-Untersuchungen . . . . .	24
7.	<b>HSV-2</b> - Protokoll der PCR-Untersuchungen . . . . .	24
8.	<b>Morphologische Analyse der Plasmazellinfiltrate</b> - Relation zwischen Lokalisation und Quantität (Prozentualer Anteil der Plasmazellinfiltrate) . .	26
9.	<b>Entwicklung einer vaskulären Abstoßungsreaktion / Transplantatglomerulopathie</b> - Betrachtung der einzelnen Kollektive . . . . .	27
10.	<b>Morphometrie</b> - Prozentuale Verteilung der Zellpopulationen im Gesamtkollektiv, bei akuten und chronischen interstitiellen Abstoßungsreaktionen (Gruppe I und II) sowie in den einzelnen Unterkollektiven . . . . .	28
11.	<b>Morphometrie</b> - Prozentualer Anteil der Plasmazellen in Bezug auf die sezernierten Immunglobuline (IgG, IgA, IgM) . . . . .	29
12.	<b>Herpes-Viren, Übersicht</b> - Nachweis von Herpes-Virus-DNA in den Unterkollektiven: positive Fälle / untersuchte Fälle . . . . .	36
13.	<b>Ursache der terminalen Niereninsuffizienz</b> - Grunderkrankung der Patienten in den einzelnen Unterkollektiven und dem Gesamtkollektiv . . . . .	44
14.	<b>Multivariate Analyse</b> - Transplantatsüberlebensrate in Relation zu den morphologischen Befunden, Cox-Proportional-Hazard-Model . . . . .	50
15.	<b>Multivariate Analyse</b> - Transplantatsüberlebensrate in Relation zu nicht-immunologischer Parametern, Cox-Proportional-Hazard-Model . . . . .	50
16.	<b>Multivariate Analyse</b> - Transplantatsüberlebensrate in Relation zu primären immunologischen und sekundär wirksamen immunologischen Parametern, Cox-Proportional-Hazard-Model . . . . .	51
17.	<b>Multivariate Analyse</b> - Transplantatsüberlebensrate in Relation zu allen untersuchten möglichen Einflußfaktoren, Cox-Proportional-Hazard-Model . .	52

**D** Abkürzungsverzeichnis

Ak	<i>Antikörper</i>
ANV	<i>Akutes Nierenversagen</i>
ATG	<i>Anti-T-Lymphozyten-Globulin</i>
CMV	<i>(Humanes) Cytomegalievirus</i>
CSA	<i>Cyclosporin-A</i>
EBV	<i>Epstein-Barr-Virus</i>
HHV6	<i>Humanes Herpes Virus 6</i>
HLA	<i>Human Leukocyte Antigen</i>
HSV1	<i>Herpes-simplex-Virus 1</i>
HSV2	<i>Herpes-simplex-Virus 2</i>
IAR	<i>interstitielle Abstoßungsreaktion</i>
IgA	<i>Immunglobulin A</i>
IgG	<i>Immunglobulin G</i>
IgM	<i>Immunglobulin M</i>
NTx	<i>Nierentransplantation</i>
PRA	<i>Panel-reaktive Antikörper</i>
TGP	<i>Transplantatglomerulopathie</i>
Tx	<i>Transplantation</i>
VAR	<i>Vaskuläre Abstoßungsreaktion</i>
$\pm$ s	<i>Standardabweichung</i>
n	<i>Gesamtzahl der Fälle in einer Gruppe</i>
p	<i>Signifikanzniveau</i>
x	<i>Mittelwert</i>

---

## Literatur

- [1] Almond, P. S., Matas, A., Gillingham, K., Dunn, D. L., Payne, W. D., Gores, P., Gruessner, R. und Najarian, J. S. (1993). Risk factors for chronic rejection in renal allograft recipients. *Transplantation*, 55, 752–756.
- [2] Andersen, C. B., Ladefoged, S. D. und Larsen, S. (1994). Acute kidney graft rejection. A morphological and immunohistological study on zero-hour and follow-up biopsies with special emphasis on cellular infiltrates and adhesion molecules. *APMIS*, 102, 23–37.
- [3] Azuma, H., Nadeau, K., Mackenzie, H. S., Brenner, B. M. und Tilney, N. L. (1997). Nephron mass modulates the hemodynamic, cellular, and molecular response of the rat renal allograft. *Transplantation*, 63, 519–528.
- [4] Billingham, R., Brent, L. und Medawar, P. B. (1953). Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature*, 172, 603–608.
- [5] Borel, J. F., Feurer, C., Gubler, H. U. und Stahelin, H. (1976). Biological effects of cyclosporin A: a new antilymphocytic agent. *Agents Actions*, 6, 468–475.
- [6] Brenner, B. M., Cohen, R. A. und Milford, E. L. (1992). In renal transplantation, one size may not fit all. *J.Am.Soc.Nephrol.*, 3, 162–169.
- [7] Brenner, B. M. und Mackenzie, H. S. (1997). Nephron mass as a risk factor for progression of renal disease. *Kidney Int.Suppl.*, 63, S124–S127.
- [8] Brent, L. A history of transplantation immunology. Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto, 1. Aufl. (1997).
- [9] Brown, F. G., Nikolic-Paterson, D. J., Chadban, S. J., Dowling, J., Jose, M., Metz, C. N., Bucala, R. und Atkins, R. C. (2001). Urine macrophage migration inhibitory factor concentrations as a diagnostic tool in human renal allograft rejection. *Transplantation*, 71, 1777–1783.
- [10] Busch, G. J., Schamberg, J. F., Moretz, R. C., Strom, T. B., Tilney, N. L. und Carpenter, C. B. (1976). T and B cell patterns in irreversibly rejected human renal allografts. Correlation of morphology with surface markers and cytotoxic capacity of the isolated lymphoid infiltrates. *Lab Invest*, 35, 272–280.
- [11] Busch, G. J., Schamberg, J. F., Moretz, R. C., Strom, T. B., Tilney, N. L. und Carpenter, C. B. (1977). Four patterns of human renal allograft rejection: a cytologic and in vitro analysis of the infiltrate in 24 irreversibly rejected kidneys. *Transplant.Proc.*, 9, 37–42.
- [12] Busson, M., Benoit, G., Doye, P. und Hors, J. (1995). Analysis of cadaver donor criteria on the kidney transplant survival rate in 5,129 transplantations. *J.Urol.*, 154, 356–360.
- [13] Calne, R. Y. (1960). The rejection of renal homografts: Inhibition in dogs by 6-mercaptoprine. *Lancet*, 1, 417–418.

- 
- [14] Cecka, J. M. (1994). Outcome statistics of renal transplants with an emphasis on long-term survival. *Clin.Transplant.*, 8, 324–327.
- [15] Chandraker, A., Azuma, H., Nadeau, K., Carpenter, C. B., Tilney, N. L., Hancock, W. W. und Sayegh, M. H. (1998). Late blockade of T cell costimulation interrupts progression of experimental chronic allograft rejection. *J.Clin.Invest.*, 101, 2309–2318.
- [16] Charney, D. A., Nadasdy, T., Lo, A. W. H. und Racusen, L. C. (1999). Plasma cell-rich acute renal allograft rejection. *Transplantation*, 68, 791–797.
- [17] Clark, A. T. und Bertram, J. F. (1999). Molecular regulation of nephron endowment. *Am.J.Physiol.*, 276, F485–F497.
- [18] Colvin, R. B. (1996). The renal allograft biopsy. *Kidney Int.*, 50, 1069–1082.
- [19] Connolly, J. K., Dyer, P. A., Martin, S., Parrott, N. R., Pearson, R. C. und Johnson, R. W. (1996). Importance of minimizing HLA-DR mismatch and cold preservation time in cadaveric renal transplantation. *Transplantation*, 61, 709–714.
- [20] Coyle, A. J., Lehar, S., Lloyd, C., Tian, J., Delaney, T., Manning, S., Nguyen, T., Burwell, T., Schneider, H., Gonzalo, J. A., Gosselin, M., Owen, L. R., Rudd, C. E. und Gutierrez-Ramos, J. C. (2000). The CD28-related molecule ICOS is required for effective T cell-dependent immune responses. *Immunity.*, 13, 95–105.
- [21] Creemers, P., Brink, J. und Kahn, D. (1997). Interaction between panel reactive antibodies, auto- and cold reactive antibodies, and a positive B cell cross-match in renal and cardiac allograft survival. *Clin.Transplant.*, 11, 134–138.
- [22] David-Neto, E., Ribeiro, D. S., Ianhez, L. E., Palomino, S., Saldanha, L. B., Arap, S. und Sabbaga, E. (1993). Acute interstitial nephritis of plasma cells: a new cause for renal allograft loss. *Transplant.Proc.*, 25, 897–899.
- [23] DeFranco, A. L. (2000). B-cell activation 2000. *Immunol.Rev.*, 176, 5–9.
- [24] Delves, P. J. und Roitt, I. M. (2000). The immune system. First of two parts. *N.Engl.J.Med.*, 343, 37–49.
- [25] Dreyfuss, M., Harri, E., Hofmann, H., Kobel, H., Pache, W. und Tschertter, H. (1976). Cyclosporin A and C; new metabolites from *Trichoderma polysporum*. *Eur.J.Appl.Microbiol.*, 3, 125.
- [26] Elion, G. B. und Hitchings, G. H. *The Chemistry and Biology of Purines*. Little, Brown & Co., Boston, 1. Aufl. (1957).
- [27] Eriksson, B. M., Sjolín, J., Claesson, K., Wirgart, B. Z., Grillner, L. und Totterman, T. H. (2001). Circulating soluble vascular cell adhesion molecule-1 and intercellular adhesion molecule-1 in immunocompetent and renal transplant patients: correlation with cytomegalovirus disease and renal function. *Scand.J.Infect.Dis.*, 33, 350–354.
- [28] Fietze, E., Prösch, S., Reinke, P., Stein, J., Docke, W. D., Staffa, G., Löning, S., Devaux, S., Emmrich, F., von Baehr, R., Krüger, D. H. und Volk, H. D. (1994). Cytomegalovirus infection in transplant recipients. The role of tumor necrosis factor. *Transplantation*, 58, 675–680.
-

- 
- [29] Fishman, J. A. und Rubin, R. H. (1998). Infection in organ-transplant recipients. *N.Engl.J.Med.*, 338, 1741–1751.
- [30] Galvao, M. M., Peixinho, Z. F., Mendes, N. F. und Sabbaga, E. (1997). Stored blood—an effective immunosuppressive method for transplantation of kidneys from unrelated donors. An 11-year follow-up. *Braz.J.Med.Biol.Res.*, 30, 727–734.
- [31] Garavoy, M. R., Reddish, M. A., Busch, G. J. und Tilney, N. L. (1982). Immunoglobulin secreting cells recovered from rejected human renal allografts. *Transplantation*, 33, 109–111.
- [32] Gärtner, H. V., Rösch, C. H., Wehrmann, M. und Fischer, S. (1998). Morphologie und Pathogenese des chronischen Transplantatversagens unter besonderer Berücksichtigung der Transplantatglomerulopathie. *Nieren- und Hochdruckkrankheiten*, 27, 42–55.
- [33] Gaweco, A. S., Mitchell, B. L., Lucas, B. A., McClatchey, K. D. und Thiel, D. H. V. (1999). CD40 expression on graft infiltrates and parenchymal CD154 (CD40L) induction in human chronic renal allograft rejection. *Kidney Int.*, 55, 1543–1552.
- [34] Hariharan, S., Johnson, C. P., Bresnahan, B. A., Taranto, S. E., McIntosh, M. J. und Stablein, D. (2000). Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1988 to 1996. *N.Engl.J.Med.*, 342, 605–612.
- [35] Held, P. J., Kahan, B. D., Hunsicker, L. G., Liska, D., Wolfe, R. A., Port, F. K., Gaylin, D. S., Garcia, J. R., Agodoa, L. Y. und Krakauer, H. (1994). The impact of HLA mismatches on the survival of first cadaveric kidney transplants. *N.Engl.J.Med.*, 331, 765–770.
- [36] Hernandez-Fuentes, M. P., Baker, R. J. und Lechler, R. I. (1999). The alloresponse. *Rev.Immunogenet.*, 1, 282–296.
- [37] Hornef, M. W., Bein, G., Fricke, L., Steinhoff, J., Wagner, H. J., Hinderer, W., Sonneborn, H. H. und Kirchner, H. (1995). Coincidence of Epstein-Barr virus reactivation, cytomegalovirus infection, and rejection episodes in renal transplant recipients. *Transplantation*, 60, 474–480.
- [38] Humar, A., Hassoun, A., Kandaswamy, R., Payne, W. D., Sutherland, D. E. und Matas, A. J. (1999). Immunologic factors: the major risk for decreased long-term renal allograft survival. *Transplantation*, 68, 1842–1846.
- [39] Hume, D. M., Merrill, J. P., Miller, B. F. und Thorn, G. W. (1955). Experiences with Renal Homotransplantation in the Human: Report of Nine Cases. *J.Clin.Invest*, 34, 327–382.
- [40] Hutloff, A., Dittrich, A. M., Beier, K. C., Eljaschewitsch, B., Kraft, R., Anagnostopoulos, I. und Kroczeck, R. A. (1999). ICOS is an inducible T-cell co-stimulator structurally and functionally related to CD28. *Nature*, 397, 263–266.
- [41] Jaboulay, M. (1906). Greffe de reins au pli du coude par soudures artérielles et veineuses. *Lyon Médical*, 107, 575–577.
-

- 
- [42] Koike, J., Yamaguchi, Y., Horita, S., Tanabe, K., Fuchinoue, S., Toma, H. und Nihei, H. (2001). Clinical and pathological assessment of acute vascular rejection in the transplant kidney. *Clin.Transplant.*, 15 Suppl 5, 41–44.
- [43] Kon, S. P., Templar, J., Dodd, S. M., Rudge, C. J. und Raftery, M. J. (1997). Diagnostic contribution of renal allograft biopsies at various intervals after transplantation. *Transplantation*, 63, 547–550.
- [44] Kooijmans-Coutinho, M. F., Hermans, J., Schrama, E., Ringers, J., Daha, M. R., Bruijn, J. A. und van der Woude, F. J. (1996). Interstitial rejection, vascular rejection, and diffuse thrombosis of renal allografts. Predisposing factors, histology, immunohistochemistry, and relation to outcome. *Transplantation*, 61, 1338–1344.
- [45] Koskinen, P., Lemstrom, K., Bruggeman, C., Lautenschlager, I. und Hayry, P. (1994). Acute cytomegalovirus infection induces a subendothelial inflammation (endothelitis) in the allograft vascular wall. A possible linkage with enhanced allograft arteriosclerosis. *Am.J.Pathol.*, 144, 41–50.
- [46] Kouwenhoven, E. A., de Bruin, R. W., Heemann, U. W., Marquet, R. L. und IJzermans, J. N. (1999). Late graft dysfunction after prolonged cold ischemia of the donor kidney: inhibition by cyclosporine. *Transplantation*, 68, 1004–1010.
- [47] Krieger, N. R., Yin, D. P. und Fathman, C. G. (1996). CD4+ but not CD8+ cells are essential for allorejection. *J.Exp.Med.*, 184, 2013–2018.
- [48] Kumar, M. S. A., Cridge, P., Molavi, R. S. und Abouna, G. M. (1995). Infectious complications in the first 100 days after renal transplantation. *Transplant.Proc.*, 27, 2705–2706.
- [49] Land, W. (1998). Oxygen free radicals in experimental organ transplantation. *Transplant.Proc.*, 30, 4227.
- [50] Land, W. (1998). Postischemic reperfusion injury and adhesion molecules in nontransplant models. *Transplant.Proc.*, 30, 4249–4250.
- [51] Land, W. (1998). Postischemic reperfusion injury and cytokines. *Transplant.Proc.*, 30, 4237–4238.
- [52] Lautenschlager, I., Soots, A., Krogerus, L., Inkinen, K., Kloover, J., Loginov, R., Holma, K., Kauppinen, H., Bruggeman, C. und Ahonen, J. (1999). Time-related effects of cytomegalovirus infection on the development of chronic renal allograft rejection in a rat model. *Intervirology*, 42, 279–284.
- [53] Li, B., Hartono, C., Ding, R., Sharma, V. K., Ramaswamy, R., Qian, B., Serur, D., Mouradian, J., Schwartz, J. E. und Suthanthiran, M. (2001). Noninvasive diagnosis of renal-allograft rejection by measurement of messenger RNA for perforin and granzyme B in urine. *N.Engl.J.Med.*, 344, 947–954.
- [54] Madore, F., Hebert, M. J., Leblanc, M., Girard, R., Bastien, E., Morin, M., Beaudry, C., Boucher, A. und Dandavino, R. (1995). Determinants of late allograft nephrectomy. *Clin.Nephrol.*, 44, 284–289.
-

- 
- [55] Maryniak, R. K., First, M. R. und Weiss, M. A. (1985). Transplant glomerulopathy: evolution of morphologically distinct changes. *Kidney Int.*, 27, 799–806.
- [56] Massberg, S. und Messmer, K. (1998). The nature of ischemia/reperfusion injury. *Transplant.Proc.*, 30, 4217–4223.
- [57] Matas, A. J. (1998). Acute rejection is a major risk factor for chronic rejection. *Transplant.Proc.*, 30, 1766–1768.
- [58] Matas, A. J., Gillingham, K. J., Payne, W. D. und Najarian, J. S. (1994). The impact of an acute rejection episode on long-term renal allograft survival (t1/2). *Transplantation*, 57, 857–859.
- [59] Matas, A. J., Payne, W. D., Sutherland, D. E., Humar, A., Gruessner, R. W., Kandaswamy, R., Dunn, D. L., Gillingham, K. J. und Najarian, J. S. (2001). 2,500 living donor kidney transplants: a single-center experience. *Ann.Surg.*, 234, 149–164.
- [60] McAdam, A. J., Chang, T. T., Lumelsky, A. E., Greenfield, E. A., Boussiotis, V. A., Duke-Cohan, J. S., Chernova, T., Malenkovich, N., Jabs, C., Kuchroo, V. K., Ling, V., Collins, M., Sharpe, A. H. und Freeman, G. J. (2000). Mouse inducible costimulatory molecule (ICOS) expression is enhanced by CD28 costimulation and regulates differentiation of CD4+ T cells. *J.Immunol.*, 165, 5035–5040.
- [61] Medawar, P. B. (1944). Behaviour and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits. *J.Anat.*, 78, 176–199.
- [62] Medawar, P. B. (1945). A second study of behaviour and fate of skin homografts in rabbits. *J.Anat.*, 79, 157–176.
- [63] Meehan, S. M., Domer, P., Josephson, M., Donoghue, M., Sadhu, A., Ho, L. T., Aronson, A. J., Thistlethwaite, J. R. und Haas, M. (2001). The clinical and pathologic implications of plasmacytic infiltrates in percutaneous renal allograft biopsies. *Hum.Pathol.*, 32, 205–215.
- [64] Michon, L., Hamburger, J., Economos, N., Delinotte, P., Richet, G., Vaysee, J. und Antoine, B. (1953). Une Tentative de Transplantation Renale chez L`Homme: Aspects medicolaux et Biologiques. *La Presse Medicale*, 61, 1419.
- [65] Mihatsch, M. J., Kyo, M. und Gudat, F. (1989). [Interstitial and glomerular changes in kidney transplants]. *Verh.Dtsch.Ges.Pathol.*, 73, 207–232.
- [66] Mjornstedt, L., Konar, J., Skarp, I., Olausson, M., Sandberg, L. und Tufvesson, G. (1992). Repeated mismatches may not impair survival of renal regrafts in recipients with 0 *Transplant.Proc.*, 24, 2469.
- [67] Monteiro, F., Buelow, R., Mineiro, C., Rodrigues, H. und Kalil, J. (1997). Identification of patients at high risk of graft loss by pre- and posttransplant monitoring of anti-HLA class I IgG antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay. *Transplantation*, 63, 542–546.
-

- 
- [68] Morris, P. J., Ting, A. und Stocker, J. (1968). Leukocyte antigens in renal transplantation. 1. The paradox of blood transfusions in renal transplantation. *Med.J.Aust.*, 2, 1088–1090.
- [69] Mueller, A., Schnuelle, P., Waldherr, R. und van der Woude, F. J. (2000). Impact of the Banff '97 classification for histological diagnosis of rejection on clinical outcome and renal function parameters after kidney transplantation. *Transplantation*, 69, 1123–1127.
- [70] Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G. und Erlich, H. (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb.Symp.Quant.Biol.*, 51 Pt 1, 263–273.
- [71] Murray, J. E., Merrill, J. P., Harrison, J. H., Wilson, R. E. und Dammin, G. J. (1963). Prolonged survival of human-kidney homografts by immunosuppressive drug therapy. *N.Engl.J.Med.*, 268, 1315–1323.
- [72] Murray, J. E., Merrill, J. P. und Harrison, J. H. (2001). Renal homotransplantation in identical twins. 1955. *J.Am.Soc.Nephrol.*, 12, 201–204.
- [73] Nadasdy, T., Krenacs, T., Kalmar, K. N., Csajbok, E., Boda, K. und Ormos, J. (1991). Importance of plasma cells in the infiltrate of renal allografts. An immunohistochemical study. *Pathol.Res.Pract.*, 187, 178–183.
- [74] Neugarten, J. und Silbiger, S. R. (1994). The impact of gender on renal transplantation. *Transplantation*, 58, 1145–1152.
- [75] Nicholson, M. L., Windmill, D. C., Horsburgh, T. und Harris, K. P. (2000). Influence of allograft size to recipient body-weight ratio on the long-term outcome of renal transplantation. *Br.J.Surg.*, 87, 314–319.
- [76] Noris, M., Azzollini, N., Mister, M., Pezzotta, A., Piccinini, G., Casiraghi, F., Cugini, D., Perico, N., Orisio, S. und Remuzzi, G. (1999). Peripheral donor leukocytes prolong survival of rat renal allografts. *Kidney Int.*, 56, 1101–1112.
- [77] Nyengaard, J. R. und Bendtsen, T. F. (1992). Glomerular number and size in relation to age, kidney weight, and body surface in normal man. *Anat.Rec.*, 232, 194–201.
- [78] Opelz, G., Sengar, D. P., Mickey, M. R. und Terasaki, P. I. (1973). Effect of blood transfusions on subsequent kidney transplants. *Transplant.Proc.*, 5, 253–259.
- [79] Opelz, G., Wujciak, T., Dohler, B., Scherer, S. und Mytilineos, J. (1999). HLA compatibility and organ transplant survival. Collaborative Transplant Study. *Rev.Immunogenet.*, 1, 334–342.
- [80] Özkaynak, E., Gao, W., Shemmeri, N., Wang, C., Gutierrez-Ramos, J. C., Amaral, J., Qin, S., Rottman, J. B., Coyle, A. J. und Hancock, W. W. (2001). Importance of ICOS-B7RP-1 costimulation in acute and chronic allograft rejection. *Nat.Immunol.*, 2, 591–596.
- [81] Paul, L. C. (2001). Immunologic risk factors for chronic renal allograft dysfunction. *Transplantation*, 71, SS17–SS23.
-

- 
- [82] Peters, T. G., Shaver, T. R., Ames, J. E., Santiago-Delpin, E. A., Jones, K. W. und Blanton, J. W. (1995). Cold ischemia and outcome in 17,937 cadaveric kidney transplants. *Transplantation*, 59, 191–196.
- [83] Prat, V., Horcickova, M., Matousovic, K., Hatala, M. und Liska, M. (1985). Urinary tract infection in renal transplant patients. *Infection*, 13, 207–210.
- [84] Prommool, S., Jhangri, G. S., Cockfield, S. M. und Halloran, P. F. (2000). Time dependency of factors affecting renal allograft survival. *J.Am.Soc.Nephrol.*, 11, 565–573.
- [85] Racusen, L. C., Solez, K., Colvin, R. B., Bonsib, S. M., Castro, M. C., Cavallo, T., Croker, B. P., Demetris, A. J., Drachenberg, C. B., Fogo, A. B., Furness, P., Gaber, L. W., Gibson, I. W., Glotz, D., Goldberg, J. C., Grande, J., Halloran, P. F., Hansen, H. E., Hartley, B., Hayry, P. J., Hill, C. M., Hoffman, E. O., Hunsicker, L. G., Lindblad, A. S., Marcussen, N., Mihatsch, M. J., Nadasdy, T., Nickerson, P., Olsen, T. S., Papadimitriou, J. C., Randhawa, P. S., Rayner, D. C., Roberts, I., Rose, S., Rush, D., Salinas, M. L., Salomon, D. R., Sund, S., Taskinen, E., Trpkov, K. und Yamaguchi, Y. (1999). The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int.*, 55, 713–723.
- [86] Saiki, R. K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K. B., Horn, G. T., Erlich, H. A. und Arnheim, N. (1985). Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230, 1350–1354.
- [87] Saisu, K., Morozumi, K., Suzuki, K. und Fujita, K. (1999). Significance of interstitial lesions as the early indicator for acute vascular rejection in human renal allografts. *Clin.Transplant.*, 13 Suppl 1, 17–23.
- [88] Sayegh, M. H. und Turka, L. A. (1998). The role of T-cell costimulatory activation pathways in transplant rejection. *N.Engl.J.Med.*, 338, 1813–1821.
- [89] Schlüter, E., Lennert, K. und Bohle, A. (1975). The immunological significance of cellular infiltrates in chronic rejection of human kidney transplants. *Virchows.Arch.A.Path.Anat.and Histol.*, 368, 191–204.
- [90] Schneeberger, H., Schleibner, S., Illner, W. D., Messmer, K. und Land, W. (1993). The impact of free radical-mediated reperfusion injury on acute and chronic rejection events following cadaveric renal transplantation. *Clin.Transpl.*, 219–232.
- [91] Schnitzler, M. A., Hollenbeak, C. S., Cohen, D. S., Woodward, R. S., Lowell, J. A., Singer, G. G., Tesi, R. J., Howard, T. K., Mohanakumar, T. und Brennan, D. C. (1999). The economic implications of HLA matching in cadaveric renal transplantation. *N.Engl.J.Med.*, 341, 1440–1446.
- [92] Schöne, G. Die heteroplastische und homoplastische Transplantation; eigene Untersuchungen und vergleichende Studien. Springer-Verlag, Berlin, 1. Aufl. (1912).
- [93] Schwartz, R. und Damashek, W. (1960). The effects of 6-mercaptopurine on homograft reactions. *J.Clin.Invest*, 39, 952–958.
-

- 
- [94] Schwarz, C., Regele, H., Steininger, R., Hansmann, C., Mayer, G. und Oberbauer, R. (2001). The contribution of adhesion molecule expression in donor kidney biopsies to early allograft dysfunction. *Transplantation*, 71, 1666–1670.
- [95] Sharp, P. A., Sudgen, B. und Sambrook, J. (1973). Detection of two restriction endonuclease activities in *Haemophilus parainfluenzae* using analytical agarose–ethidium bromide electrophoresis. *Biochemistry*, 12, 3055–3063.
- [96] Silverstein, A. M. *A History of Immunology*. Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto, 1. Aufl. (1989).
- [97] Soderberg-Naucler, C. und Emery, V. C. (2001). Viral infections and their impact on chronic renal allograft dysfunction. *Transplantation*, 71, SS24–SS30.
- [98] Solez, K. (1995). Renal allograft histopathology. *Nephrol.Dial.Transplant.*, 10 Suppl 1, 44–50.
- [99] Souillou, J. P. (1998). Donor-specific transfusion-induced tolerance: mechanisms revisited. *Transplant.Proc.*, 30, 2438–2440.
- [100] Starzl, T. E., Marchioro, T. L. und Waddell, W. R. (1963). The reversal of rejection in human renal homografts with subsequent development of homograft tolerance. *Surg.Gynecol.Obstet.*, 117, 385–395.
- [101] Takemoto, S., Terasaki, P. I., Cecka, J. M., Cho, Y. W. und Gjertson, D. W. (1992). Survival of nationally shared, HLA-matched kidney transplants from cadaveric donors. The UNOS Scientific Renal Transplant Registry. *N.Engl.J.Med.*, 327, 834–839.
- [102] Takemoto, S. K., Terasaki, P. I., Gjertson, D. W. und Cecka, J. M. (2000). Twelve years' experience with national sharing of HLA-matched cadaveric kidneys for transplantation. *N.Engl.J.Med.*, 343, 1078–1084.
- [103] Terasaki, P. I., Cecka, J. M., Gjertson, D. W., Takemoto, S., Cho, Y. W. und Yuge, J. (1996). Risk rate and long-term kidney transplant survival. *Clin.Transpl.*, 443–458.
- [104] Terasaki, P. I., Gjertson, D. W., Cecka, J. M., Takemoto, S. und Cho, Y. W. (1997). Significance of the donor age effect on kidney transplants. *Clin.Transpl.*, 11, 366–372.
- [105] Terasaki, P. I., Koyama, H., Cecka, J. M. und Gjertson, D. W. (1994). The hyperfiltration hypothesis in human renal transplantation. *Transplantation*, 57, 1450–1454.
- [106] Terasaki, P. I., McClelland, J. D., Yuge, J., Cecka, J. M., Gjertson, D. W., Takemoto, S. und Cho, Y. W. (1995). Advances in kidney transplantation: 1985–1995. *Clin.Transpl.*, 487–501.
- [107] Tolkoff-Rubin, N. E. und Rubin, R. H. (1998). Viral infections in organ transplantation. *Transplant.Proc.*, 30, 2060–2063.
- [108] Ullmann, E. (1902). Experimentelle Nierentransplantation. *Wien.klin.Wschr.*, 15, 281–283.
-

- [109] van Dam, J. G., Li, F., Yin, M., You, X. M., Grauls, G., Steinhoff, G. und Bruggeman, C. A. (2000). Effects of cytomegalovirus infection and prolonged cold ischemia on chronic rejection of rat renal allografts. *Transpl.Int.*, 13, 54–63.
- [110] Vereerstraeten, P., Wissing, M., Pauw, L. D., Abramowicz, D. und Kinnaert, P. (1999). Male recipients of kidneys from female donors are at increased risk of graft loss from both rejection and technical failure. *Clin.Transplant.*, 13, 181–186.
- [111] Voronoy, Y. Y. (1937). Sobre bloqueo del aparato reticuloendotelial del hombre en algunas formas de intoxicacion por el sublimado y sobre la transplatacion del rinon cadaverico como metodo de tratamiento de la anuria consecutiva a aquella intoxicacion. *El Siglo Med.*, 97, 296.
- [112] Vos, Q., Lees, A., Wu, Z. Q., Snapper, C. M. und Mond, J. J. (2000). B-cell activation by T-cell-independent type 2 antigens as an integral part of the humoral immune response to pathogenic microorganisms. *Immunol.Rev.*, 176, 154–170.
- [113] Womer, K. L., Vell, J. P. und Sayegh, M. H. (2000). Chronic allograft dysfunction: Mechanisms and new approaches to therapy. *Sem.nephrol.*, 20, 126–147.
- [114] Woo, Y. M., Jardine, A. G., Clark, A. F., MacGregor, M. S., Bowman, A. W., Macpherson, S. G., Briggs, J. D., Junor, B. J., McMillan, M. A. und Rodger, R. S. (1999). Early graft function and patient survival following cadaveric renal transplantation. *Kidney Int.*, 55, 692–699.
- [115] Zweier, J. L. (1998). Free radical generation in human endothelial cells exposed to anoxia and reoxygenation. *Transplant.Proc.*, 30, 4228–4232.

## Danksagung

Mein tiefster Dank gilt Frau Prof. Dr. med. H.V. Gärtner, die mich bei der Erstellung der vorliegende Arbeit mit außergewöhnlichem Engagement und Einsatzbereitschaft unterstützt hat.

Die Betreuung war durch ihr reges Interesse sowie zahlreiche Diskussionen eine intensive wissenschaftliche Auseinandersetzung, die weit über das Thema der Doktorarbeit hinausging. So fand ich stets unkompliziert Gehör bei methodischen, organisatorischen und wissenschaftlichen Fragestellungen. Ihren stetigen Anregungen und ihrer Motivation verdanke ich letztlich den Abschluß dieser Arbeit. Darüberhinaus entwickelte sich aus dieser Zusammenarbeit ein gar freundschaftliches Verhältnis, wofür ich besonders dankbar bin.

Herzlichen Dank gilt Herrn PD. Dr. med. M. Wehrmann für seine engagierte Unterstützung sowie zahlreiche Anregungen und Hinweise für die Planung und Durchführung der statistischen Auswertung.

Ebenso möchte ich mich bei Frau Pietsch-Breitfeld aus dem Institut für Biometrie für einführende Überlegungen zum Aufbau der Arbeit bedanken.

Herrn Dr. med. C. Aepinus und Herrn Dr. rer. nat. T. Bock bin ich für viele Anregungen bezüglich der molekularbiologischen Versuche und Auswertungen dankbar.

Herrn PD. Dr. med. E. Jehle bin ich für die Erlaubnis zur Einsichtnahme der Akten im Transplantationsbüro der Chirurgischen Universitätsklinik Tübingen zu Dank verpflichtet.

Außerdem möchte ich herzlich Frau Dr. med. Gerber aus dem Zentralklinikum Augsburg, sowie Frau Schulz aus dem Transplantationsbüro des Klinikums Großhadern danken, die mir unbürokratische Einsicht in klinische Daten der auswärtigen Patienten ermöglichten.

Den Mitarbeiterinnen des histologischen und immunhistologischen Labors, Frau Junghans, Frau Mall und Frau Weihing sei herzlichst für ihre Mühe, Geduld und Verständnis gedankt, welches sie im laufe dieser Arbeit des öfteren aufbringen mußten.

# **Lebenslauf**

von

**Thomas Kurt Eigentler**

geb. 24.11.1973

Am 24. November 1973 kam ich, Thomas Kurt Eigentler, als Kind der Eheleute Konrad Eigentler und Ursula Eigentler, geborene Kirchner, in Nürtingen zur Welt.

Von 1980 bis 1984 besuchte ich die Grundschule in Frickenhausen-Linsenhofen und im Anschluß daran von 1984-1990 die Realschule in Neuffen. Nach Abschluß der mittleren Reife wechselte ich 1990 auf das Technische Gymnasium der Werner-Siemens-Schule Stuttgart, an dem ich am 18.05.1993 die Reifeprüfung ablegte.

Meinen Zivildienst leistete ich vom 01.07.1993 bis 30.09.1994 als OP-Pflegehelfer im Kreis-krankenhaus Nürtingen ab, in dem ich im Anschluß an den Zivildienst bis zum 31.03.1995 weiter als Pflegehelfer auf der Krankenstation arbeitete.

Im Sommersemester 1995 folgte die Immatrikulation an der Eberhardt-Karls-Universität in Tübingen im Fach Humanmedizin. Nach bestandem Physikum, dem ersten und zweiten Staatsexamen, folgte der erfolgreiche Abschluß des Studiums der Humanmedizin mit dem 3. Staatsexamen am 19.11.2001.

Zum 01.01.2002 erfolgte die Anstellung als Arzt im Praktikum am Anatomischen Institut der Universität Tübingen, welcher ein Wechsel in die Universitätshautklinik Tübingen zum 01.03.2002 folgte.