

Aus dem Klinikum Stuttgart (Olgahospital/Frauenklinik)
Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Tübingen
Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
mit Laborpraxis

CD26 als prädiktiver Marker für die Abstoßung bei Patienten in der späteren Phase nach Nierentransplantation

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Strobel, Saskia

2018

Dekan: Professor Dr. I.B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. E. Wieland

2. Berichterstatter: Professor Dr. R. Lehmann

Tag der Disputation: 31.07.2018

INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG	1
1.1.	Niereninsuffizienz und Dialyse	1
1.2.	Todesursachen bei Nierentransplantation bzw. Ursachen für den Verlust einer transplantierten Niere	2
1.3.	Exkurs Immunsystem	3
1.3.1.	Wichtigste Oberflächenantigene	3
1.4.	Die Abstoßungsreaktion	4
1.4.1.	T-Zellen/T-Lymphozyten	5
1.4.2.	Arten der Abstoßungsreaktion	7
1.4.2.1.	Hyperakute Abstoßung	7
1.4.2.2.	Akzelerierte (beschleunigte) Abstoßung	7
1.4.2.3.	Akute Abstoßung	8
1.4.2.4.	Chronische Abstoßung	8
1.5.	Immunsuppressiva	9
1.5.1.	Prednisolon	9
1.5.2.	Mycophenolat	10
1.5.3.	Tacrolimus	11
1.6.	Monitoring und Management von (Nieren-) Transplantationspatienten	11
1.7.	Biomarker	13
1.8.	CD26/DPPIV	15
1.9.	Vorgängerstudien	18
1.10.	Ziele dieser Studie	19
2.	MATERIAL UND METHODEN	20
2.1.	Patientenkollektiv	20
2.1.1.	Ein- und Ausschlusskriterien	20
2.1.2.	Aufklärung der Patienten	21
2.1.3.	Entnahme der Blutprobe	21
2.1.4.	Sonstiges	21
2.2.	Erhebung klinischer Daten	22
2.2.1.	Stammdaten	23
2.2.2.	Aufgetretene Ereignisse	23
2.3.	Ausschluss von Patienten	24
2.4.	Erhobene Laborwerte	25
2.5.	Analyse der Biomarker	25
2.5.1.	Analyse der Oberflächenmarker	25
2.5.2.	Analyse der DPPIV-Aktivität	26
2.6.	Analyse der Immunsuppressiva	27
2.6.1.	Tacrolimus	27
2.6.2.	MPA, fMPA, MPAG und AcMPAG	27
2.7.	Weitere Analyten und Nachweis von Viren	28
2.7.1.	Leukozyten	28
2.7.2.	Kreatinin	29
2.7.3.	CMV und BKV	29
2.8.	Standardimmunsuppression und weitere Medikamente	29
2.8.1.	Immunsuppressive Medikamente	29

2.8.2.	Andere Medikamente	30
2.8.3.	Immunsuppression bei Abstoßungsreaktion	31
2.9.	Statistik und Tabellen bzw. Abbildungen	31
3.	ERGEBNISSE	32
3.1.	Patientenkollektiv	32
3.1.1.	Klinische Ereignisse	34
3.1.2.	Infektionen, Erreger und antibiotische Therapie	36
3.2.	Biomarker	37
3.2.1.	Verlauf der untersuchten Biomarker in der frühen und späteren Phase	38
3.2.2.	Vergleich der Biomarker in den verschiedenen Patientengruppen	41
3.2.2.1.	Geschlecht	41
3.2.2.2.	Hochrisikogruppe	42
3.2.2.3.	Postmortal vs Lebendspende	43
3.2.2.4.	Ersttransplantation vs Vortransplantation	44
3.3.	Immunsuppression	45
3.3.1.	Verlauf der Immunsuppression in der frühen und späteren Phase	46
3.4.	Korrelation der Biomarker und Immunsuppression zum Zeitpunkt P4	49
3.4.1.	CD3+/CD26+ %	49
3.4.2.	CD4+/CD26+ %	51
3.4.3.	CD8+/CD26+ %	52
3.4.4.	DPPIV-Aktivität U/l	54
3.5.	Korrelation der DPPIV-Konzentration mit den Biomarkern CD3+/CD26+ %, CD4+/CD26+ % und CD8+/CD26+ % zum Zeitpunkt P4	55
3.6.	Klinische Ereignisse und Biomarker bzw. Immunsuppression	56
3.6.1.	Gesamtinfektion	56
3.6.1.1.	Assoziation zwischen Biomarkern und Gesamtinfektion im Beobachtungszeitraum nach P4	56
3.6.1.2.	Assoziation zwischen der Konzentration der Immunsuppressiva und Gesamtinfektion im Nachbeobachtungszeitraum nach P4	58
3.6.2.	Virale Infektionen	59
3.6.2.1.	Assoziation zwischen Biomarkern und viralen Infektionen im Beobachtungszeitraum nach P4	59
3.6.2.2.	Assoziation zwischen der Konzentration der Immunsuppressiva und viralen Infektionen im Beobachtungszeitraum nach P4	61
3.6.3.	Transplantatabstoßung/Rejektion	63
3.6.3.1.	Assoziation zwischen Biomarkern und Transplantatabstoßung im Beobachtungszeitraum nach P4	63
3.6.3.2.	Assoziation zwischen der Konzentration der Immunsuppressiva und Transplantatabstoßung im Beobachtungszeitraum nach P4	64
3.6.4.	Leukopenie	66
3.6.4.1.	Assoziation zwischen Biomarkern und Leukopenie im Beobachtungszeitraum nach P4	66
3.6.4.2.	Assoziation zwischen der Konzentration der Immunsuppressiva und Leukopenie im Beobachtungszeitraum nach P4	70
3.7.	Kombination der Immunsuppressivkonzentrationen und der Biomarker zur Vorhersage von Leukopenien	77

4.	DISKUSSION	81
4.1.	CD26/DPPIV als potentieller Biomarker zur Steuerung der Immunsuppression	81
4.1.1.	Nierentransplantation	81
4.1.2.	Lungentransplantation	82
4.1.3.	Herztransplantation	84
4.1.4.	Stammzelltransplantation	84
4.2.	Beantwortung der aufgestellten Fragen	85
4.2.1.	Bestätigt sich der Zusammenhang zwischen der CD26-Expression auf T-Lymphozyten als Zeichen einer T-Zellaktivierung und einer Transplantatabstoßung in der späteren Phase nach Transplantation?	85
4.2.2.	Korreliert die DPPIV-Aktivität im Plasma mit der CD26-Expression auf T-Lymphozyten in der späteren Phase, und kann somit die DPPIV-Aktivität als Marker für die T-Zellaktivierung verwendet werden?	89
4.2.3.	Besteht zwischen CD26-positiven T-Lymphozyten sowie der DPPIV-Aktivität im Plasma auch in der späteren Phase nach Transplantation ein Zusammenhang mit der Immunsuppression (MPA-, AcMPAG-, fMPA- und Tacrolimus-Konzentration)?	92
4.2.4.	Besteht in der späteren Phase nach Nierentransplantation ein Zusammenhang zwischen CD26-positiven T-Zellen bzw. der DPPIV-Aktivität und anderen klinischen Ereignissen als einer Transplantatabstoßung?	94
4.3.	Weitere potentielle Biomarker	98
4.4.	Methodenkritik	99
4.5.	Ausblick auf die Biomarker	100
5.	ZUSAMMENFASSUNG	101
6.	LITERATURVERZEICHNIS	103
7.	ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL	119
8.	DANKSAGUNG	120

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

- Abb. 1: Kostimulierendes Signal an der CD8-T-Zelle
- Abb. 2: Schädigung der Zielzelle durch zytotoxische CD8-T-Zellen
- Abb. 3: Zeitschiene Transplantationsdatum bis 6 Monate nach Abnahme der Blutprobe P4
- Abb. 4: Abstand in Tagen zwischen Transplantationsdatum und Abnahmezeitpunkt P4
- Abb. 5: Alter der Patienten mit hohem und niedrigem immunologischen Risiko
- Abb. 6: Alter der Patienten ohne und mit Leukopenie im Beobachtungszeitraum nach P4
- Abb. 7: Verlauf von CD3+/CD26+ %
- Abb. 8: Verlauf von CD4+/CD26+ %
- Abb. 9: Verlauf von CD8+&CD26+ %
- Abb. 10: Verlauf der DPPIV-Aktivität
- Abb. 11: Verlauf der MPA-Konzentration
- Abb. 12: Verlauf der fMPA-Konzentration
- Abb. 13: Verlauf des prozentualen Anteils der fMPA (%fMPA)
- Abb. 14: Verlauf der MPAG-Konzentration
- Abb. 15: Verlauf der AcMPAG-Konzentration
- Abb. 16: Verlauf der Tacrolimus-Konzentration
- Abb. 17: Expression von CD3+/CD26+ % in Abhängigkeit von der fMPA-Konzentration zum Zeitpunkt P4
- Abb. 18: Expression von CD4+/CD26+ % in Abhängigkeit von der fMPA-Konzentration zum Zeitpunkt P4
- Abb. 19: Expression von CD8+/CD26+ % in Abhängigkeit von der Tacrolimus-Konzentration zum Zeitpunkt P4
- Abb. 20: Expression von CD8+/CD26+ % in Abhängigkeit von der fMPA-Konzentration zum Zeitpunkt P4
- Abb. 21: Expression der DPPIV-Aktivität in Abhängigkeit von der Tacrolimuskonzentration zum Zeitpunkt P4
- Abb. 22: Expression der DPPIV-Aktivität in Abhängigkeit von der fMPA-Konzentration zum Zeitpunkt P4
- Abb. 23: ROC-Kurve der DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 2-Monats-Zeitraum
- Abb. 24: ROC-Kurve von CD3+/CD26+% zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum
- Abb. 25: ROC-Kurve von CD4+/CD26+% zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum

- Abb. 26: ROC-Kurve der DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum nach P4
- Abb. 27: ROC-Kurve der Tacrolimuskonzentration zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 2-Monats-Zeitraum
- Abb. 28: ROC-Kurve des prozentualen Anteils der fMPA (%fMPA) zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 2-Monats-Zeitraum
- Abb. 29: ROC-Kurve der MPAG-Konzentration zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 2-Monats-Zeitraum
- Abb. 30: ROC-Kurve der Tacrolimuskonzentration zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum
- Abb. 31: ROC-Kurve der MPA-Konzentration zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum
- Abb. 32: ROC-Kurve der fMPA-Konzentration zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum
- Abb. 33: ROC-Kurve der AcMPAG-Konzentration zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum
- Abb. 34: ROC-Kurve für das Auftreten einer Leukopenie im 2-Monats-Zeitraum bei 2 Parametern unter bzw. über dem Cut off
- Abb. 35: ROC-Kurve für das Auftreten einer Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum bei 2 Parametern unter bzw. über dem Cut off

TABELLENVERZEICHNIS

- Tab. 1: Stadien der chronischen Niereninsuffizienz
- Tab. 2: Antikörper, Farbstoff und Emissionsbereich bei der Durchflusszytometrie der Oberflächenmarker
- Tab. 3: Grunderkrankungen der Patienten
- Tab. 4: Bakterielle Erreger
- Tab. 5: Verabreichte Antibiotika
- Tab. 6: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4
- Tab. 7: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 bei Männern und Frauen
- Tab. 8: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 bei Patienten mit normalem und hohem Risiko
- Tab. 9: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 bei Patienten mit postmortaler Spende und Lebendspende
- Tab.10: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 bei Ersttransplantation und Vortransplantation
- Tab. 11: Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4
- Tab. 12: Korrelation von CD3+/CD26+ % mit der Konzentration der Immunsuppressiva zum Zeitpunkt P4
- Tab. 13: Korrelation von CD4+/CD26+ % mit der Konzentration der Immunsuppressiva zum Zeitpunkt P4
- Tab. 14: Korrelation von CD8+/CD26+ % mit der Konzentration der Immunsuppressiva zum Zeitpunkt P4
- Tab. 15: Korrelation der DPPIV-Aktivität mit der Konzentration der Immunsuppressiva zum Zeitpunkt P4
- Tab. 16: Korrelation der DPPIV-Aktivität mit den Biomarkern CD3+/CD26+ %, CD4+/CD26+ % und CD8+/CD26+ % zum Zeitpunkt P4
- Tab. 17: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität und Gesamtfektion im 2-Monats-Zeitraum nach dem Zeitpunkt P4
- Tab. 18: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität und Gesamtfektion im 6-Monats-Zeitraum nach dem Zeitpunkt P4
- Tab. 19: Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und Gesamtfektion im 2-Monats-Zeitraum
- Tab. 20: Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und Gesamtfektion im 6-Monats-Zeitraum
- Tab. 21: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität und virale Infektionen im 2-Monats-Zeitraum nach dem Zeitpunkt P4
- Tab. 22: CD26 positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität und virale Infektionen im 6-Monats-Zeitraum nach dem Zeitpunkt P4
- Tab. 23: Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und virale Infektionen im 2-Monats-Zeitraum

- Tab. 24: Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und virale Infektionen im 6-Monats-Zeitraum
- Tab. 25: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 und Transplantatabstoßung im 2-Monats-Zeitraum
- Tab. 26: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 und Transplantatabstoßung im 6-Monats-Zeitraum
- Tab. 27: Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und Transplantatabstoßung im 2-Monats-Zeitraum
- Tab. 28: Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und Transplantatabstoßung im 6-Monats-Zeitraum
- Tab. 29: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 und Leukopenie im 2-Monats-Zeitraum
- Tab. 30: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 und Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum
- Tab. 31: ROC-Analyse der CD26-positiven T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 und Auftreten von Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum
- Tab. 32: Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und Leukopenie im 2-Monats-Zeitraum
- Tab. 33: Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum
- Tab. 34: ROC-Analyse der Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und Auftreten von Leukopenie im 2-Monats-Zeitraum
- Tab. 35: ROC-Analyse der Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und Auftreten von Leukopenien im 6-Monats-Zeitraum
- Tab. 36: Zusammenstellung der Parameter für die Vorhersage einer Leukopenie

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

2 Mon	2-Monats-Zeitraum nach P4
6 Mon	6-Monats-Zeitraum nach P4
AcMPAG	MPA-Acylglucuronid
ADA	Adenosin-Desaminase
ADPKD	Autosomal-dominante polyzystische Nierenerkrankung
APC	Antigenpräsentierende Zellen
ATG	Antithymozytenantigen/Thymoglobulin
BKV	Humanes Papylomavirus 1
CMV	Cytomegalie-Virus
DGF	Delayed Graft Function
DPPIV	Dipeptidylpeptidase IV
fMPA	freie Mycophenolsäure
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
HLA	Human Leucocyte Antigen
HPLC	Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (high performance liquid chromatography)
HUS	Hämolytisch-urämisches Syndrom
IL	Interleukin
IMPDH	Inosinmonophosphat-Dehydrogenase
KDIGO	Kidney Disease: Improving Global Outcomes
LCT	Lymphozytentoxizitätstest
MHC	Major Histocompatibility Complex
MPA	Mycophenolsäure
MPAG	Mycopheonolat-Glucuronid
P4	Blutprobe der späteren Phase bzw. Zeitpunkt der Blutprobe der späteren Phase
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PRA	Panel-reaktive Antikörper
RiliBÄK	Richtlinie der Bundesärztekammer zu Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen

ROC	Receiver Operating Characteristic
sCD26	lösliche CD26
SCIDS	Severe Combined Immunodeficiency Syndrom
Tac	Tacrolimus
TCR	T-Zell-Rezeptor
Tx	Transplantation

1. EINLEITUNG

Am 02. Juni 2018 wird in Saarbrücken der Tag der Organspende gefeiert. Jedes Jahr wird am ersten Samstag im Juni bundesweit auf das Thema Organ- und Gewebespende hingewiesen [1].

Es ist sehr wichtig, der Bevölkerung die Notwendigkeit von Organspende immer wieder ans Herz zu legen, da zum einen eine Differenz zwischen Angebot und Nachfrage besteht und zum anderen die Anzahl von Spenden aktuell rückgängig ist [2].

1.1. Niereninsuffizienz und Dialyse

Die chronische Niereninsuffizienz wird nach der internationalen Gesellschaft für Nephrologie „Kidney Disease: Improving Global Outcomes“ (KDIGO) wie folgt definiert [3]:

„Ein Nierenschaden über 3 Monate mit oder ohne Funktionseinschränkung, d.h. erniedrigter glomerulärer Filtrationsrate (GFR), der sich durch strukturelle Veränderungen und Marker eines Nierenschadens manifestiert, oder eine GFR $< 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ über 3 Monate (mit oder ohne Nachweis eines Nierenschadens)“

Es kommt zu einer irreversiblen Verminderung der glomerulären, tubulären und endokrinen Funktion der Nieren [4].

Die Stadien der chronischen Niereninsuffizienz sind laut KDIGO über die GFR definiert [3]:

Tab. 1: Stadien der chronischen Niereninsuffizienz (nach [3])

Stadium	GFR	Beschreibung
1	> 90 ml/min/1,73 m ²	Nierenschaden mit normaler oder erhöhter GFR
2	60-89 ml/min/1,73 m ²	Nierenschaden mit leicht erniedrigter GFR
3a	45-59 ml/min/1,73 m ²	Nierenschaden mit leicht bis moderat erniedrigter GFR
3b	30-44 ml/min/1,73 m ²	Nierenschaden mit moderat bis stark erniedrigter GFR
4	15-29 ml/min/1,73 m ²	Nierenschaden mit stark erniedrigter GFR
5	< 15 ml/min/1,73 m ²	Terminale Niereninsuffizienz

GFR = Glomeruläre Filtrationsrate

Ein Nierenersatzverfahren ist zwar lebensrettend, bringt aber starke Einschränkungen der Lebensqualität mit sich und hat viele Risiken [5, 6].

Zudem ist die Mortalität bei Dialysepatienten im Vergleich zu transplantierten Patienten erhöht [7]. Durch Dialyseverfahren werden nur ca. 10% der normalen Entgiftungsleistung erbracht. Eine Spenderniere erreicht hier fast die Hälfte der Leistung einer gesunden Niere [8].

1.2. Todesursachen bei Nierentransplantation bzw. Ursachen für den Verlust einer transplantierten Niere

Die häufigsten Ursachen für den Verlust einer transplantierten Niere sind [9, 10]:

- Chronische Abstoßungsreaktion
- Akute Abstoßungsreaktion
- Initiale Nichtfunktion des Nierentransplantats
- Technische Komplikationen, die zu einem Transplantatversagen führen

Die häufigsten Todesursachen von Nierentransplantatempfängern waren kardiovaskulär und infektiös bzw. septisch bedingt.

Bei der chronischen Abstoßung sind die vier häufigsten Ursachen die intestinale Fibrose, die Glomerulosklerose, die Tubulusatrophie und eine Verengung der Arterien.

Risikofaktoren für eine chronische Abstoßung sind eine akute Abstoßungsreaktion, eine Infektion und eine zu niedrige Dosierung von Immunsuppressiva [11].

1.3. Exkurs Immunsystem

Der Körper ist in der Lage Körperfremdes von körpereigenem zu trennen. Das Immunsystem ist zweigleisig aufgebaut: das angeborene Immunsystem und das adaptive Immunsystem.

Ersteres ist das entwicklungs geschichtlich ältere System und erkennt allgemein und unspezifisch Fremdkörper, z.B. typische Teile der Zellwandstruktur von Bakterien. Das adaptive Immunsystem wirkt speziell gegen ein bestimmtes Antigen. Beide Systeme haben einen humoralen und einen zellulären Anteil und arbeiten eng zusammen.

Die akute Abstoßungsreaktion eines Transplantats ist vor allem durch T-Zellen vermittelt [12, 13].

1.3.1. Wichtigste Oberflächenantigene

Die beiden wichtigsten und stärksten Oberflächenstrukturen sind die Glykoproteine der Blutgruppenmerkmale des AB0-Systems und der Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC = major histocompatibility complex) [14]. Beim Menschen heißen die MHC-Moleküle „human leucocyte antigens“ (HLA), d.h. HLA I und HLA II [15].

Für die Humanmedizin sind 3 Arten von HLA I-Proteinen wichtig:

HLA-A

HLA-B

HLA-C

Sie sind aus einer α -Kette, die aus 3 Domänen (α_1 , α_2 und α_3) besteht, und dem β_2 -Mikroglobulin aufgebaut [15].

Über die HLA I-Moleküle werden Antigene für die CD8-T-Zellen präsentiert. Es handelt sich hier um intrazelluläre Antigene (a.e. Viren). Die CD8-T-Zelle als zytotoxische Zelle zerstört daraufhin die präsentierende Zelle [16].

HLA II-Moleküle werden nur auf professionellen antigenpräsentierenden Zellen (APC), d.h. auf dendritischen Zellen, Makrophagen und B-Zellen exprimiert. Hier hervorzuheben wären HLA-DP, HLA-DQ und HLA-DR.

Sie bestehen aus einer α -Kette mit zwei Domänen ($\alpha 1$ und $\alpha 2$) und einer β -Kette, die ebenfalls aus 2 Bereichen ($\beta 1$ und $\beta 2$) besteht. Die Antigendarbietung richtet sich an CD4-Zellen. Die APC nehmen z.B. Krankheitserreger auf und prozessieren sie, müssen aber nicht automatisch von ihnen befallen sein. Die Präsentation über HLA II zeigt also das Vorhandensein von extrazellulären Antigenen (z.B. Bakterien) [17, 18].

Jede HLA-Klasse hat verschiedene Genvarianten. Zudem kommen die Chromosomen durch die Vererbung mütterlicherseits und väterlicherseits doppelt vor. Deshalb ist eine hundertprozentige Übereinstimmung der HLA-Typen, auch „full house match“ genannt, bei nichtverwandten Menschen quasi unmöglich [14]. Manche HLA-Loci bewirken eine stärkere immunologische Antwort als andere. Je nach transplantiertem Organ sind dies andere HLA-Typen. Bei der Nierentransplantation haben HLA-DR, HLA-B und HLA-A die stärkste immunologische Wirkung [14, 6].

Bei den Voruntersuchungen zur Organtransplantation gilt es den bestmöglichen Empfänger zu finden, denn je weniger Übereinstimmungen zwischen Empfänger und Spender es gibt, desto höher ist das Abstoßungsrisiko. Es gibt HLA-Konstellationen, die aufgrund der schlechten Prognose „Tabu-Mismatches“ heißen [6].

1.4. Die Abstoßungsreaktion

Die Antigene des Spenders können vom Immunsystem des Empfängers bei der Transplantation entweder direkt oder indirekt erkannt werden [19].

Bei ersterem werden die fremden HLA-Moleküle des Spenders von den CD8-T-Zellen direkt erkannt [20].

Beim indirekten Weg werden die Spender-Antigene von antigenpräsentierenden Zellen des Empfängers aufgenommen, verarbeitet und dann den CD4-T-Zellen präsentiert [21].

Bei der Transplantation spielen auch kostimulierende Moleküle wie z.B. CD40 auf dendritischen Zellen eine große Rolle, da diese aufgrund des Stresses durch Ischämie und Reperfusion vermehrt auf der Oberfläche exprimiert werden [22].

1.4.1. T-Zellen/T-Lymphozyten

Die T-Lymphozyten tragen auf ihrer Oberfläche eine Rezeptorart, die zu 95% aus einer α -Kette und einer β -Kette besteht. Beide Ketten haben einen variablen und einen konstanten Bereich. Auf der variablen Seite befindet sich die Antigenbindungsstelle [16]

Der T-Zell-Rezeptor ist eng mit zwei Transmembranproteinen verbunden, dem CD3-Molekül und einem ζ -Homodimer [23].

Zusätzlich besitzen die T-Zellen Co-Rezeptor-Typen: CD4 und CD8.

Sie können so in T-Helferzellen (CD4) und in zytotoxische T-Zellen (CD8) unterteilt werden [24].

CD4 kann an HLA-Klasse II-Moleküle binden, welche auf den APC vorhanden sind. Wie in Abbildung 1 zu sehen ist, wird für die Aktivierung der T-Helferzelle neben dem präsentierten Antigen zusätzlich ein kostimulierendes Signal benötigt. Im Falle einer dendritischen Zelle ist dies CD28/B7. Ohne dieses Extrasignal bleibt die Zelle anerg [19, 25].

Die Bindung von T-Helferzellen an die antigenpräsentierenden Zellen bewirkt zum einen eine Aktivierung der zytotoxischen T-Zellen und zum anderen, dass eosinophile Granulozyten angelockt werden.

Die CD8-Moleküle haben für HLA-Klasse I-Moleküle spezielle Bindungsstellen. Auch hier muss gleichzeitig ein Antigen präsentiert und ein kostimulierendes Signal gesandt werden, woraufhin die zytotoxischen T-Zellen aktiviert werden und die präsentierende Zelle zerstören.

Moleküle der HLA-Klasse-II werden von den CD8-Zellen nicht erkannt [25].

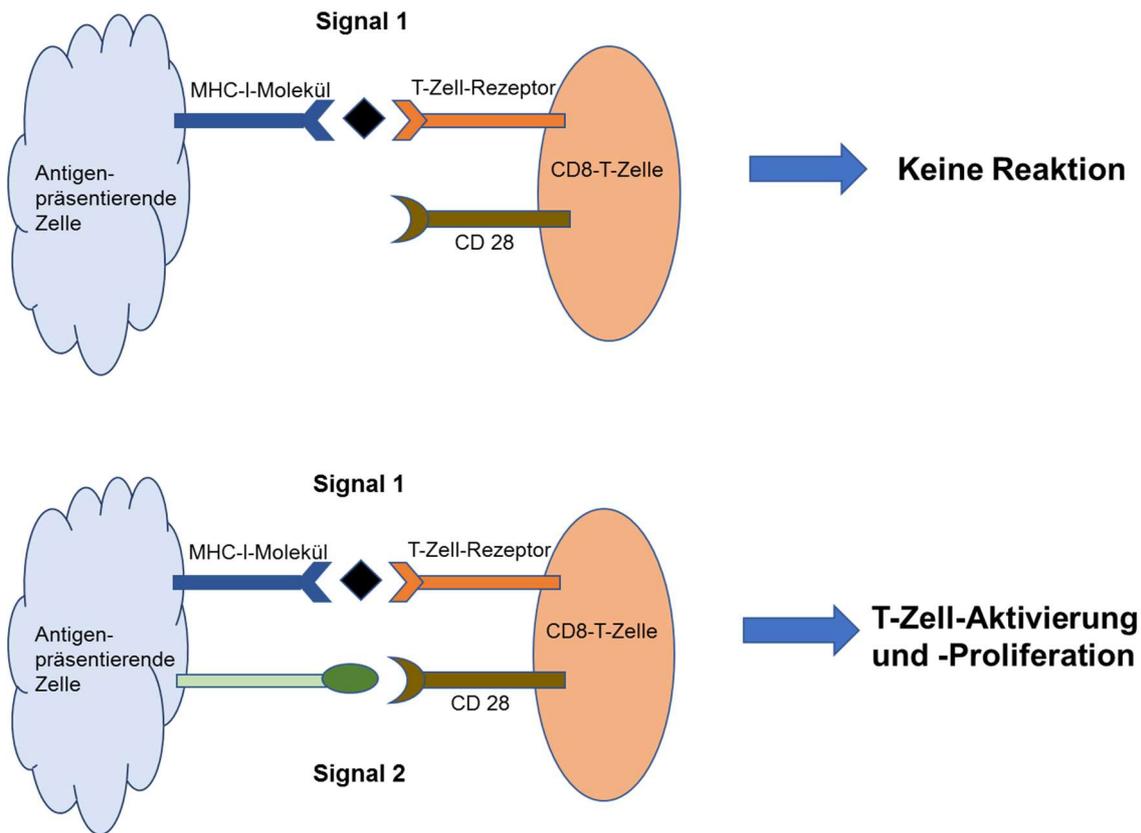


Abb. 1: Kostimulierendes Signal an der CD8-T-Zelle (modifiziert nach [25, 26])

Die zytotoxischen Zellen nutzen zwei Systeme, um fremde Zellen zu zerstören (Abb. 2).

Mit Perforin und Granzyme gefüllte Bläschen entleeren sich bei der Aktivierung der T-Zelle. Perforin bohrt einen Tunnel in die Zellwand und bringt durch das Eindringen von Wasser die Zelle zum Platzen. Granzyme kann über diese Pore ebenfalls eindringen und in der Zelle die Apoptose bewirken.

Zusätzlich können zytotoxische T-Zellen den Zelltod über die Aktivierung des Fas-Rezeptors auslösen, welcher auf vielen Zellen vorkommt [13].

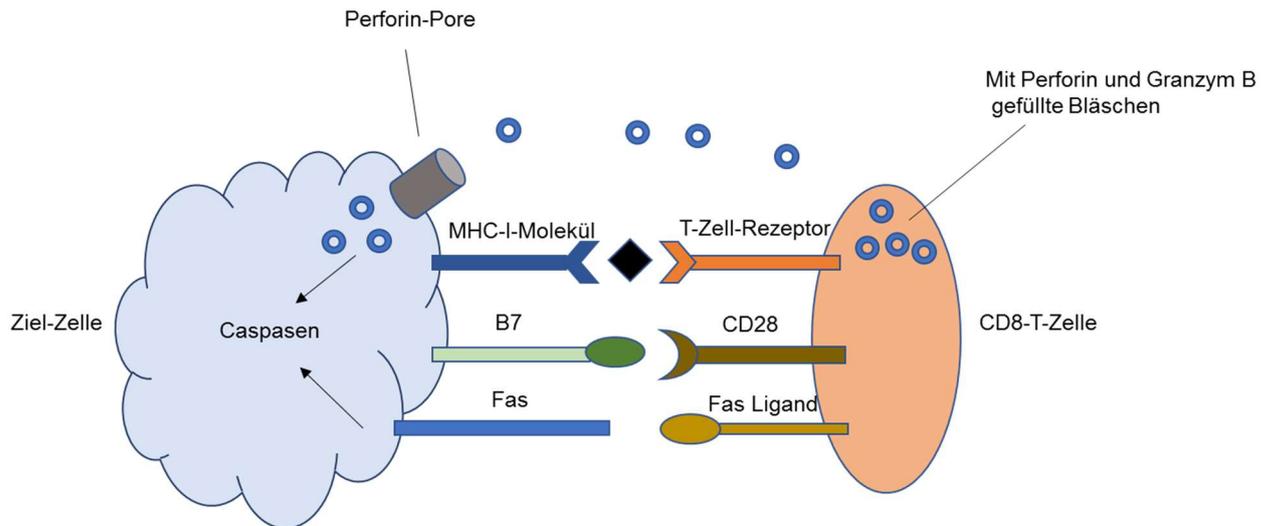


Abb. 2: Schädigung der Zielzelle durch zytotoxische CD8-T-Zellen (modifiziert nach [13])

1.4.2. Arten der Abstoßungsreaktion

1.4.2.1. Hyperakute Abstoßung

Die hyperakute Abstoßung beginnt innerhalb weniger Minuten und kann meist schon während der Operation erkannt werden, da das Organ eine gräulich-blasser Farbe hat. Durch einen hohen Anteil von Antikörpern gegen die Gewebeeigenschaften des Spenders wird das Komplementsystem aktiviert, was zur Zerstörung des Transplantats führt. Es gibt hier keine Therapiemöglichkeit. Aufgrund des vor Transplantation durchgeführten Crossmatch ist die hyperakute Abstoßung selten geworden, da ein positives Crossmatch-Ergebnis ein Ausschlusskriterium darstellt.

Eine AB0-inkompatible Spende ist inzwischen möglich, da vor der Transplantation ein Plasmaaustausch oder eine Immunadsorption durchgeführt werden, die die Abstoßung verhindern [27, 28].

1.4.2.2. Akzelerierte (beschleunigte) Abstoßung

Zwei bis fünf Tage nach Transplantation kommt es hier trotz negativem Crossmatch zu einer Abstoßung des Organs.

Ursache hierfür ist eine Reaktivierung bereits vorhandener T-Zellen oder B-Gedächtniszellen, d.h. die Antikörperproduktion wird aktiviert. Ein nach der Transplantation durchgeführter Crossmatch wäre jetzt positiv.

Als Gründe sind u.a. vorangegangene Bluttransfusion, Schwangerschaft oder eine vorherige Transplantation zu nennen.

Das Organ nimmt seine Funktion nicht auf. Differentialdiagnostisch kommt die akute Tubulusnekrose in Frage. Dies kann durch eine Nierenbiopsie geklärt werden [29-31].

1.4.2.3. Akute Abstoßung

Die Wahrscheinlichkeit, eine akute Abstoßung zu erleiden, liegt bei 5-10% im ersten Jahr [32].

Durch die „normale“ Immunreaktion und somit die Aktivierung naiver T- und B-Zellen kann es nach 6 bis 90 Tagen nach Transplantation zur akuten Abstoßung kommen.

Sie kann allerdings auch zu jedem anderen Zeitpunkt danach auftreten, wenn der Patient z.B. unterimmunsupprimiert ist [29].

Die Hauptsymptome sind u.a. ein akuter Rückgang der Diurese und ein Anstieg der Retentionsparameter, manchmal auch Auftreten von Fieber und Schmerzen im Transplantat [13, 29, 32]. Die Diagnosestellung erfolgt über eine perkutane Nierenbiopsie, was aktuell der Goldstandard der Diagnosesicherung ist [33].

Aufgrund der Entwicklung neuer Immunsuppressiva ist das Risiko, innerhalb eines Jahres nach Transplantation eine Abstoßung zu erleiden, auf unter 15% gesunken. Das Langzeitüberleben des Transplantats ist jedoch immer noch idem [34].

1.4.2.4. Chronische Abstoßung

Die chronische Transplantatabstoßung geschieht im Zeitraum von Monaten bis Jahren (>2 Monate) nach der Transplantation. Hier kommt es zu einer immunologischen (zell- und antikörpervermittelten) Immunreaktion und zu einer nichtimmunologischen (sekundäre Veränderungen z.B. durch Hypertonus oder

Hyperlipidämie) Schädigung der Kapillaren [35, 36]. Als Folge davon kommt es zu einer Transplantatunterversorgung. Dies führt zu einer Fibrosierung des Organs, was die Funktion beeinflusst [13, 30].

Die chronische Abstoßung zeigt sich vor allem durch einen langsamen Kreatininanstieg über Monate und eine Proteinurie [29].

1.5. Immunsuppressiva

Um eine Abstoßung zu verhindern, werden heute verschiedene immunsuppressive Medikamente eingesetzt.

Die gebräuchlichsten Wirkstoffklassen sind [37]:

- Glukokortikoide (z.B. Prednisolon)
- Calcineurininhibitoren (z.B. Tacrolimus, Cyclosporin A)
- Antimetabolite (z.B. Mycophenolsäure, Azathioprin)
- monoklonale Antikörper (z.B. Basiliximab)
- polyklonale Antikörper gegen Lymphozyten
- mTOR-Inhibitoren (z.B. Sirolimus, Everolimus)

Anfangs muss u.a. wegen des chirurgischen Traumas eine starke Immunsuppression verabreicht werden, später kann die Dosis verringert werden. Bei Bedarf (z.B. bei Abstoßung) wird die Medikation wieder erhöht.

Die allgemeinen Nebenwirkungen der Immunsuppressiva sind vielfältig und zum Teil schwerwiegend. Es kommt vermehrt zu Infekten (z.B. durch das Zytomegalievirus oder allgemein zu Harnwegsinfekten). Kardiovaskuläre Probleme treten auf (Hypertonus etc.). Knochenveränderungen wie beispielsweise die steroidinduzierte Osteoporose kommen vor. Problematisch ist auch das erhöhte Tumorrisiko, weshalb alle Patienten nach Transplantation regelmäßig einem Tumorscreening unterzogen werden [38].

1.5.1. Prednisolon

Prednisolon wird zum einen zur Erhaltungstherapie eingesetzt. Es ist aber auch ein potentes Medikament bei der Behandlung der akuten Abstoßung.

Es behindert die Produktion von Interleukin 1 (IL1), Interleukin 6 (IL6) und Tumornekrosefaktor α (TNF α) und unterdrückt so indirekt die T-Zell-Proliferation. Außerdem inhibieren Glukokortikoide die MHC-Expression auf den Makrophagen, was wiederum die T-Zell-Aktivierung verhindert. Durch die Hemmung der IL2-Produktion wird die Bindungsfähigkeit des Rezeptors erniedrigt, und die Wanderung von Entzündungszellen ins Transplantat wird vermindert. Durch die IL2-Blockade wird auch die Proliferation von zytotoxischen T-Zellen vermindert [39].

Glukokortikoide haben viele Nebenwirkungen. Die wichtigsten wären nach der erhöhten Infektionsgefahr die Entstehung eines Cushing-Syndroms bei Dosierungen überhalb der Cushingschwelle, die erschwerte Wundheilung, Muskel- und Hautatrophien durch die katabole Wirkung von Kortison, die Gefahr des Posttransplantdiabetes und zu guter Letzt die Osteoporoseneigung. Hier ist vor allem die aseptische Hüftkopfnekrose gefürchtet [40, 41].

1.5.2. Mycophenolat

Mycophenolat hemmt reversibel das Enzym Inosinmonophosphat-Dehydrogenase (IMPDH), was zu einer Abnahme von Guanodin-Phosphaten und einer Zunahme von Adenosin-Phosphaten führt. Adenosin-Phosphate blockieren wiederum die De-novo-Synthese von Purin, was eine Hemmung der DNA-Synthese bewirkt.

Andere Zellarten können Purin aus Hypoxanthin herstellen. Da dies bei T- und B-Lymphozyten nicht möglich ist, sind sie auf die Neusynthese angewiesen, d.h. Mycophenolat wirkt sehr spezifisch auf die Proliferation von T- und B-Lymphozyten.

Es gibt zwei Darreichungsformen: Natrium-Mycophenolat, das verzögert freigesetzt wird, und Mycophenolatmofetil.

Neben den oben schon erwähnten allgemeinen Nebenwirkungen, ist Mycophenolat teratogen und kann zu Durchfällen führen [42-44].

1.5.3. Tacrolimus

Das Makrolid Tacrolimus inhibiert die Produktion proinflammatorischer Zytokine in der Phase der frühen T-Zell-Aktivierung. Es hemmt Calcineurin und somit die Vermehrung zytotoxischer T-Zellen und die T-Zell-abhängige B-Zell-Aktivierung. Als Nebenwirkungen sind vor allem die Hypertonieneigung durch die renale Gefäßengstellung und die Neurotoxizität zu nennen. Außerdem wirkt es nephrotoxisch und erhöht den Blutzuckerspiegel im Blut [45, 46].

1.6. Monitoring und Management von (Nieren-) Transplantationspatienten

Während für den Zeitraum bis 6 Monate nach einer Organtransplantation das Transplantatüberleben deutlich verbessert werden konnte, ist das Langzeitüberleben leider weitgehend unverändert [47, 48].

Es gibt viele Faktoren, die ein transplantiertes Organ beeinflussen. Einige (wie das chirurgische Vorgehen oder die Ischämiezeit) konnten verbessert werden, andere (wie die Grunderkrankung oder das Alter des Patienten) konnten bisher kaum bzw. nicht beeinflusst werden.

Optimalerweise sollten Immunsuppressiva so gering wie möglich dosiert sein, damit die weiterhin vorhandenen Nebenwirkungen so selten wie möglich auftreten. Gleichzeitig sollte die Dosierung aber hoch genug sein, dass keine Transplantatabstoßung auftritt.

Die Herausforderung einer ausgewogenen Balance zwischen Über- und Unterimmunsuppression liegt u.a. im komplexen menschlichen Organismus. Bei gleicher Dosierung können bei unterschiedlichen Patienten unterschiedliche Werte erreicht werden [49, 50].

Ursächlich hierfür kann z.B. eine Medikation mit Protonenpumpeninhibitoren sein [51, 52].

Aktuell wird für das Monitoring nierentransplantierter Patienten vor allem die Organfunktion und die immunsuppressive Therapie beobachtet [53]. Die KDIGO hat im Jahr 2009 eine Leitlinie zur Betreuung von Nierentransplantatempfängern veröffentlicht [54-56]. Hier wird die Kontrolle der Immunsuppressiva mittels

Spiegelbestimmung empfohlen. Für die Funktion des Transplantats empfiehlt die KDIGO sonografische Kontrollen und zusätzlich die Messung des Urinvolumens, einer etwaigen Proteinurie, des Serum-Kreatinins und der GFR. Die berechnete GFR (eGFR) ist in ihrer Aussagekraft nicht so genau wie die gemessene GFR [57]. Aus praktischen Gründen wird die eGFR trotzdem genutzt, obwohl es bei Nierentransplantierten starke Abweichungen gibt.

Eine Nierenbiopsie wird nur bei Bedarf für die Differenzierung zwischen Abstoßungsreaktion und anderen Ursachen einer rückläufigen Nierenfunktion, sozusagen als Indikationsbiopsie, empfohlen. Hierfür ist die Nierenbiopsie aktuell der Goldstandard [31, 33, 58]. Eine Protokollbiopsie wird für nicht zielführend erachtet.

Die Nierenbiopsie kann die verschiedenen Differentialdiagnosen zwar ausschließen, ist aber zum einen invasiv und damit potentiell gefährlich für den Patienten [59, 60] und benötigt zum anderen eine vergleichsweise lange Zeitspanne zwischen Probenentnahme und Ergebnis [53].

Aus diesem Grund wird bei dem Verdacht auf eine akute Abstoßung teilweise mit einer Kortikoidstoßtherapie gestartet und erst im Verlauf, wenn keine Besserung auftritt, eine Biopsie durchgeführt. Problematisch ist dies, wenn der Anstieg der Retentionswerte beispielsweise durch einen aufsteigenden Harnwegsinfekt verursacht ist. Hier wäre eine Steroidtherapie kontraindiziert [60].

Jedoch bleibt die Nierenbiopsie weiterhin ein wichtiger Baustein des Monitorings der Abstoßungsreaktion.

Das Serum-Kreatinin spiegelt die Funktion des Organs an, bietet jedoch keine genaue Differenzierung der Nierenfunktionsprobleme [53]. Ursächlich für einen Kreatininanstieg kann einerseits eine Abstoßungsreaktion, andererseits auch eine Medikamentennebenwirkung z.B. durch Cyclosporin A sein [61].

Bei der Nierentransplantation kann man vergleichsweise problemlos und vor allem nicht-invasiv die Ausscheidungsmenge beurteilen, jedoch wird diese durch

viele Faktoren, wie zu geringe Flüssigkeitseinfuhr etc., beeinflusst und spiegelt damit die Nierenfunktion nicht komplett wider.

Die Messung einer Proteinurie ist ebenfalls eher ungenau. Zwar steht eine erhöhte Proteinausscheidung in Zusammenhang mit einem verminderten Transplantatüberleben, kann gleichzeitig aber auch ein Hinweis auf eine glomeruläre Störung sein [62]. Zudem kommt eine Proteinurie bei nierentransplantierten Patienten häufig vor [63] und wird u.a. durch Sirolimus beeinflusst [64].

Das Monitoring und Management von nierentransplantierten Patienten ist also nur eingeschränkt möglich.

Einen Einblick in den immunologischen Status eines Patienten und damit die Einschätzung, wie sehr ein Patient gefährdet ist, eine Abstoßung zu erleiden bzw. sogar sein Organ zu verlieren, können aktuell nur wenige Diagnosetools geben. Eine Leukopenie kann im Blutbild gesehen werden. Die Bestimmung des Medikamentenspiegels ist möglich.

Vor allem in der frühen Phase nach Nierentransplantation ist die Gefahr, eine akute Abstoßung zu erleiden, viel höher als in der späteren Phase [65].

Es gibt hier inzwischen einige Studien, bei denen Biomarker getestet wurden, die eine Abstoßungsreaktion vorhersagen, einen ausreichenden Level der Immunsuppression wiedergeben oder auch eine allgemeine Prognose der Lebenserwartung des transplantierten Organs abgeben könnten. Eine Übersicht hierzu geben einigen Reviews, die in den letzten Jahren verfasst wurden [66-68].

1.7. Biomarker

Das amerikanische National Institute of Health definiert Biomarker als Merkmale, die objektiv gemessen und beurteilt werden können und als Indikatoren für normale oder pathogene biologische Prozesse oder für pharmakologische Reaktionen auf therapeutische Interventionen dienen [69-71].

Für die Diagnostik sind diejenigen Marker wichtig, die eine frühe Erkrankung erkennen können (Screening marker), die den vermutlichen Verlauf einer

Krankheit vorhersagen können (Prognostic marker), die die vermutliche Antwort auf ein Medikament vor dem Behandlungsbeginn vorhersagen können (Prediction marker) und/oder die Wirksamkeit einer medikamentösen Behandlung zeigen können, wenn feststeht, dass ein Patient auf die Therapie anspricht (Monitoring marker).

In der Transplantationsmedizin können Biomarker in ihre verschiedenen „Aufgabenbereiche“ aufgeteilt werden:

Es gibt „biomarkers of rejection“, mit denen eine Abstoßungsreaktion vorhergesagt werden soll, und „biomarkers of tolerance“, die der Einstellung der Immunsuppression dienen [72].

Bei den Biomarkern zur Vorhersage einer Abstoßung kann eine Aufteilung in diejenigen, die das Langzeitüberleben vorhersagen (HLA-Antikörper etc.) [73], und die, welche vergleichsweise kurzfristig eine Abstoßung vorhersagen, vorgenommen werden.

Diese können entweder aus biologischem Material wie Blut oder Urin gewonnen werden, direkt am Patienten gemessen werden oder können bildgebende Verfahren sein [74].

Bei der Nierentransplantation sind vor allem das periphere Blut und der Urin wichtig, da sie vergleichsweise ungefährlich zu erhalten sind. Der Urin spiegelt das Transplantationsorgan Niere wieder. Andere Gewebe und Flüssigkeiten wie z.B. Tränenflüssigkeit oder Biopsieproben spielen eine eher untergeordnete Rolle [72].

In ihrem Review beschreiben Lo et al. einen Biomarker als geeignet, wenn er ein guter Surrogatendpunkt ist. Durch einen solchen Biomarker sollten idealerweise eine Abstoßung, eine Änderung des Krankheitsverlaufs oder eine andere Ursache für eine Entzündung bzw. eine Schädigung der Niere frühzeitig erkannt werden, sodass eine präventive Therapie möglich ist [75].

Ein Problem bei der Entwicklung eines solchen Biomarkers sehen die Autoren außerdem im bestmöglichen Zeitpunkt der Entnahme bzw. Messung des Markers. Auch die Länge der Messintervalle sollte analysiert und entsprechend festgelegt werden.

Laut Lo et al. sollten entsprechende Grenzwerte erforscht werden, sodass z.B. festgelegt wird, ab wann eine Intervention sinnvoll ist. Die Marker sollen bei schwierigen Entscheidungen, beispielsweise bei potentiell gefährlichen Interventionen, als Hilfestellung dienen. Schließlich müssen nach Ansicht von Lo et al. klinisch tätige Mediziner miteinbezogen werden, um festzulegen, wie und wofür die von den Biomarkern gewonnenen Daten genutzt werden, d.h. ob die Biomarker als prognostische Marker, als prädiktive Marker oder als Surrogatendpunkte dienen sollen.

Nach dem jetzigen Stand der Wissenschaft gibt es aber leider aktuell keinen Marker, der das Risiko für eine Transplantatabstoßung sicher vorhersagt. Studien haben ergeben, dass das Oberflächenprotein CD 26, das auf aktivierten T-Zellen zu finden ist, hier einiges an Potential hat [76-78].

1.8. CD26/DPPIV

Unter dem Namen Glycyl-Propyl-Beta-Naphthylamid wurde CD26/DPPIV im Jahr 1966 erstmals beschrieben [79]. Im Jahr 1984 wurde ein 105 kDa großes Antigen gefunden, das T-Lymphozyten aktiviert. Es wurde Ta1 genannt [80].

Für die Moleküle Tp103 [81] und Ta1 [80, 82] wurde ein Zusammenhang mit T-Zell-Aktivierung gefunden. Tp103 und Ta1 wurden im Verlauf als CD26/DPPIV identifiziert [81, 83].

CD26 hat intrinsische Dipeptidylpeptidase IV-Aktivität [84, 85], weshalb CD26 und DPPIV synonym verwendet werden [86].

Das Glykoprotein CD26/DPPIV kommt membrangebunden auf der Zelloberfläche vor und weist in der extrazellulären Domäne DPPIV-Aktivität auf [80].

Auch auf verschiedenen Geweben, wie z.B. Haut, Pankreas und Nieren, ist CD26/DPPIV zu finden [81, 86, 87]. Bei den Blutkörperchen befindet sich CD26/DPPIV nur auf der Membran von T-Lymphozyten [86, 88] und wird bei einer Aktivierung der T-Lymphozyten vermehrt an die Oberfläche abgegeben [89]. Dies kann vergleichsweise unproblematisch nach Enzymmarkierung mittels Immunfluoreszenz nachgewiesen werden [90].

CD26/DPPIV hat eine große extrazelluläre Domäne mit 766 Aminosäuren und eine kleine intrazelluläre mit 6 Aminosäuren [91].

Es gibt eine lösliche Form von CD26 (sCD26), welche in verschiedenen Flüssigkeiten gefunden wurde [92].

Im Verlauf der Forschung wurden immer mehr Bereiche und Funktionen entdeckt, bei denen CD26/DPPIV eine Rolle spielt, wie z.B. beim Diabetes Typ 2 [93] oder bei Rheuma [94].

Dass CD26/DPPIV für das Immunsystem eine wichtige Rolle spielt, ist beispielsweise daran zu sehen, dass auf fast 40% der peripheren Lymphozyten CD26/DPPIV gefunden wurde [95].

Circa 10-60% der T-Zellen produzieren DPPIV [86, 89].

Bei Lymphozyten, die mit Phytohämagglutinin stimuliert wurden, fand man einen stärkeren Anstieg der DPPIV-Aktivität im Zellkulturmedium als bei nicht-stimulierten Lymphozyten [96].

Flentke et al. zeigten, dass eine Hemmung von CD26 durch Antikörper eine Blockade der T-Zell-Aktivierung nach sich zog [97].

CD26 spaltet Dipeptide am aminoterminalen Ende von Peptiden und Proteinen ab, die entweder Prolin, Alanin oder Serin am vorletzten Ende aufweisen [98, 99]. Die 6 Aminosäuren lange zytoplasmatische Region ist mutmaßlich zu kurz für eine direkte Signal-Transduktion [91].

CD26 greift u.a. über CD45 [100], die Adenosin-Desaminase (ADA) [101], den Chemokinrezeptor CXCR4 und Mannose-6-Phosphat in das Immunsystem, genauer die T-Zell-Aktivierung, ein [102, 103].

CD 45 hat bei der Signalübertragung im T-Zell-Rezeptor u.a. über die Freisetzung von Calcium in das Zytosol eine zentrale Bedeutung [104, 105].

Das Enzym Adenosin-Desaminase reguliert die Anheftung von Lymphozyten an die Epithelzellen und wandelt als Teil der Wiederverwertung von Purinnukleotiden Adenosin und Desoxyadenosin in Inosin und 2'Desoxyinosin um [106]. CD26 interagiert hier als ADA-bindendes Protein [84].

Ein Mangel an ADA führt zu einem generalisierten Immundefekt, genannt Severe Combined Immunodeficiency Syndrom (SCIDS) [84]. Das Enzym kommt auf der Oberfläche der Lymphozyten vor [98] und befindet sich in direkter Nachbarschaft

zu CD26/DPPIV [107]. Es konnte gezeigt werden, dass die ADA-vermittelte Aktivierung von T-Zellen von der Bindung von CD26/DPPIV und ADA abhängt, wodurch ein kostimulatorisches Signal ausgelöst wird [108].

Antonioli et al. haben nachgewiesen, dass bei medikamentös induzierter Kolitis eine Hemmung der ADA zu einer schwächeren Entzündungsreaktion führt [109]. Die ADA ist nicht membrangebunden und benötigt deshalb ein Verbindungsstück zu dieser. Ein solches kann CD26 sein [101, 108]. ADA bindet an den glykosylatreichen Bereich, während der zystinreiche Bereich u.a. Verbindungen zu Kollagen eingeht [110].

Gines et al. haben einen Zusammenhang zwischen der Verbindung CD26-ADA und der Zelladhäsion zwischen T-Zellen gefunden. Bei höheren CD26-Spiegeln war die Bindung zwischen den Zellen stärker, durch Hemmung mit einem CD26-Antikörper war die Bindung schwächer [111].

Saunders et al. haben 2010 einen Review zu CD45 veröffentlicht [112]. Diese Protein-Tyrosin-Phosphatase (PTPase) trägt durch Dephosphorylierung von Phosphotyrosin zur T-Zell-Aktivierung bei.

Torimoto et al. haben gezeigt, dass CD26 mit der Tyrosinkinase CD45 eine direkte Verbindung eingeht [100].

Dies wurde von Ishii et al. bestätigt. Sie zeigten, dass CD26 in Membranmikrodomänen, sogenannten Lipid Rafts, vorhanden ist, sich mit CD45 über den zytoplasmatischen Bereich von CD45 verbindet und CD45 dann in diesen Rafts nachweisbar ist [113].

Desweiteren ist CD26/DPPIV ein Schlüsselenzym für die Chemokine CXCL12 und CXCR4 [99], welche als Gruppe der Zytokine eine Immunaktivierung bewirken. Die Aktivität zahlreicher Substanzen und Prozesse (z.B. Neuropeptide, Chemokine und Wachstumsfaktoren) könnten durch CD26/DPPIV beeinflusst und reguliert werden [114].

Von Vorteil ist die Tatsache, dass CD26/DPPIV auch in löslicher Form vorhanden und damit vergleichsweise problemlos im Blut zu messen ist. Es kann sowohl die Enzymaktivität als auch das Protein nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse können innerhalb von 24 h vorliegen, während die Messung von anderen Biomarkern teilweise über drei Tage dauert [115].

CD26/DPPIV hat das Potenzial, als Marker für die Aktivierung der T-Zellen genutzt zu werden [89]. Damit hätte man die Möglichkeit, eine Abstoßungsreaktion vorherzusagen und entsprechend frühzeitig zu behandeln, wenn sich dieser Biomarker in klinischen Studien bewährt.

1.9. Vorgängerstudien

Die erste Vorgängerstudie wurde im Jahr 2011 veröffentlicht [77]. Hier wurden bei 35 Patienten in der frühen Phase (d.h. bis 23 Tage) nach Nierentransplantation die Expression der Marker CD25, CD71 und CD26, die Aktivität der Inosinmonophosphat-Dehydrogenase und die Zellproliferation bei ex vivo stimulierten und nichtstimulierten CD3⁺-Zellen untersucht.

Das Ergebnis dieser Studie war, dass vor allem CD26 ein erfolgversprechender Biomarker sein könnte, da er zum einen durch eine vergleichsweise problemlose Untersuchung von EDTA-Vollblut mittels Durchflusszytometrie direkt auf T-Zellen nachweisbar ist und zum anderen sowohl eine Überimmunsuppression als auch eine Unterimmunsuppression anzeigen könnte.

Aufgrund der vielversprechenden Ergebnisse wurde eine weitere Studie durchgeführt [76, 78].

Hier wurde die Expression von CD 26 auf CD3⁺-, CD4⁺- und CD8⁺-Zellen gemessen, außerdem die Aktivität der Dipeptidylpeptidase IV (DPPIV) und zusätzlich die Konzentration der Mycophenolsäure (MPA), der freien Mycophenolsäure (fMPA) und der MPA-Metaboliten Mycophenolat-Glucuronid (MPAG) und MPA-Acylglucuronid (AcMPAG). Des Weiteren wurden die Nierenfunktion und Infektionen bzw. Leukopenien erfasst, dies alles in der frühen Phase nach Nierentransplantation, d.h. bis 2 Monate danach.

Es konnten die Ergebnisse der Vorgängerstudie bestätigt werden, d.h. dass die verminderte CD26-Expression auf T-Zellen mit weniger akuten Rejektionen assoziiert war [76].

Es konnte auch gezeigt werden, dass die Sensitivität und Spezifität der direkt aus dem EDTA-Vollblut gemessenen Werte zwar etwas schlechter waren als mit isolierten Lymphozyten, dieser Nachteil aber durch die durchaus leichtere Gewinnung und Verarbeitung der Probe ausgeglichen wird.

Ein interessanter Aspekt war, dass die Ergebnisse der Probe am 14. Tag Hinweise darauf gaben, dass in der späten Phase nach Nierentransplantation eine Verbindung zwischen CD26-Expression und Überimmunsuppression bestehen könnte.

Deshalb wurde in der aktuellen Studie der Zusammenhang zwischen CD26-Expression und Abstoßung in der späteren Phase (d.h. über einem Monat) nach Nierentransplantation untersucht.

1.10. Ziele dieser Studie

Die vorliegende Studie ist eine Nachfolgestudie der Dissertation von Frau Dr. Simone Leicht mit dem Titel „CD26 als prädiktiver Marker für die Abstoßung unter der immunsuppressiven Therapie mit Myfortic bei Patienten in der frühen Phase nach Nierentransplantation“ [76].

Es sollen jetzt dieselben Aspekte geklärt werden, allerdings für die spätere Phase, d.h. nach über einem Monat nach Nierentransplantation.

Die konkreten Fragestellungen waren:

1. Bestätigt sich der Zusammenhang zwischen der CD26-Expression auf T-Lymphozyten als Zeichen einer T-Zell-Aktivierung und einer Transplantatabstoßung auch in der späteren Phase nach Transplantation?
2. Korreliert die DPPIV-Aktivität im Plasma mit der CD26-Expression auf T-Lymphozyten auch in der späteren Phase, und kann somit die DPPIV-Aktivität als Marker für die T-Zellaktivierung verwendet werden?
3. Besteht zwischen CD26-positiven T-Lymphozyten sowie der DPPIV-Aktivität im Plasma auch in der späteren Phase nach Transplantation ein Zusammenhang mit der Immunsuppression (MPA-, AcMPAG-, fMPA- und Tacrolimus-Konzentration)?
4. Besteht in der späteren Phase nach Nierentransplantation ein Zusammenhang zwischen CD26-positiven T-Lymphozyten bzw. der DPPIV-Aktivität und anderen klinischen Ereignissen als einer Transplantatabstoßung?

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Patientenkollektiv

Insgesamt wurden 90 Patienten ausgewählt, die im Zeitraum November 2008 bis August 2010 eine Nierentransplantation erhalten hatten.

Da es eine Nachfolgestudie der Dissertation von Frau Dr. Leicht [76] war, handelte es sich um dieselben Patienten mit denselben Ein- und Ausschlusskriterien wie in dieser Studie.

2.1.1. Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien:

- Männer und nicht-schwangere Frauen über 18 Jahre
- Nur Nierentransplantatempfänger (Leichen- und Lebendspende)
- Nur oral therapierbare Patienten
- Nur mündige und geschäftsfähige Patienten
- Nur nach schriftlicher Aufklärung und schriftlicher Zustimmung des Patienten
- über 30 Tage nach Transplantation

Ausschlusskriterien:

- Kalte Ischämie des Transplantats über 48 Stunden
- Alter unter 18 Jahre
- Schwangerschaft
- Leukopenie < 2500/ μ l, Thrombopenie < 100.000/ μ l, Hb < 6,0 g/l bei Rekrutierung
- Aktives Magengeschwür oder schwere gastrointestinale Erkrankung bei Rekrutierung
- Induktionstherapie mit Antithymozytenglobulin (ATG)
- Debilität
- Tod des Patienten

2.1.2. Aufklärung der Patienten

Die Patienten wurden mündlich und schriftlich über die Studie aufgeklärt und stimmten der Teilnahme schriftlich zu. Sie erhielten zudem ein Informationsschreiben über die Studie. Fremdsprachige Patienten wurden mit Hilfe eines Dolmetschers aufgeklärt.

2.1.3. Entnahme der Blutprobe

Nach erfolgter Nierentransplantation im Katharinenhospital Stuttgart wurden die Patienten in der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten regelmäßig untersucht. In den ersten drei Monaten wurden die Patienten wöchentlich, dann alle 2 Wochen gesehen. Nach Ablauf des ersten Jahres erfolgte dann einmal pro Monat eine Untersuchung.

Die Abnahme der Blutprobe in der späteren Phase erfolgte im Rahmen einer solchen Routineuntersuchung. Es wurde EDTA-Vollblut abgenommen, welches zuerst für die Standard-Blutbildanalyse und ggfs. für die Bestimmung des Tacrolimus-Talspiegels genutzt wurde. Die Restprobe konnte für die Bestimmung der Biomarker der Studien verwendet werden. Es wurde also keine zusätzliche Blutentnahme bei den Patienten durchgeführt.

Die Blutentnahmen wurden vor der täglichen Einnahme der Medikamente durchgeführt.

Es wurde pro Patient nur eine einzige Blutprobe für die Analyse der späteren Phase verwendet.

In der Vorgängerstudie wurden insgesamt drei Blutproben abgenommen. Da es sich in dieser Studie um die insgesamt vierte Blutprobe handelt, wurde diese P4 genannt.

2.1.4. Sonstiges

Die Studie wurde der Ethikkommission vorgelegt. Es wurde ein positives Votum erteilt (Nr. 363/2008B02 vom 26.11.2008).

2.2. Erhebung klinischer Daten

Die Datenerhebung erfolgte über die im SAP-System des Klinikums Stuttgart gespeicherten Unterlagen (Arztbriefe, Laborwerte etc.).

Als spätere Phase nach Nierentransplantation wurde die Zeit ab 30 Tage nach dem Datum der Nierentransplantation (Tx) definiert. Der Beobachtungszeitraum begann ab dem Datum der entnommenen Blutprobe in der späteren Phase (P4) und endete 6 Monate nach diesem Datum.

Für die aufgetretenen klinischen Ereignisse wurde zusätzlich zu dem oben genannten 6-Monats-Zeitraum (6 Mon) noch der 2-Monats-Zeitraum (2 Mon), d.h. der Zeitraum 2 Monate nach der entnommenen Blutprobe, genauer betrachtet (Abb.3).

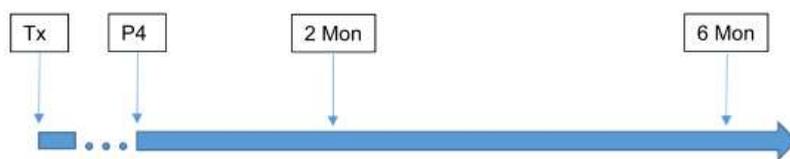


Abb. 3: Zeitschiene Transplantationsdatum bis sechs Monate nach Abnahme der Blutprobe P4

Tx = Transplantationsdatum

P4 = Datum der entnommenen Blutprobe

2 Mon = Datum P4 plus 2 Monate

6 Mon = Datum P4 plus 6 Monate

Der 6-Monats-Zeitraum beinhaltet also den 2-Monats-Zeitraum.

2.2.1. Stammdaten

Folgende Daten der Patienten wurden erfasst:

- Geschlecht
- Transplantationsdatum
- Datum der Probeentnahme in der späteren Phase
- Abstand Transplantation zur Probeentnahme in Tagen
- Alter bei Transplantation in Jahren
- Art der Transplantation (Lebendspende, Leichenniere)
- Anzahl der Vortransplantationen
- Hochrisikopatienten

d.h. Patienten, die AB0-inkompatibel transplantiert wurden, 4 oder mehr HLA-Mismatches zur Spenderniere aufwiesen, eine delayed graft function entwickelten, bereits vortransplantiert waren, oder vor der Transplantation einen Panel-Reaktiven Antikörper (PRA) im Lymphozytotoxizitätstest (LCT) von mehr als 15% aufwiesen [116, 117].

Die Patienten wurden zur Hochrisikogruppe gezählt, wenn sie zwei oder mehr der o.g. Charakteristika aufwiesen.

- Grunderkrankung bzw. Grund für die Nierentransplantation

2.2.2. Aufgetretene Ereignisse

Es wurden folgende Ereignisse, die während des Beobachtungszeitraums auftraten, registriert:

- Leukopenie
definiert als Leukozytenzahl unter 4000/ μ l
- Abstoßungsreaktionen (meist in der BANFF-Klassifikation) [118]
- Infekte, mit bakteriellem Erregernachweis und Antibiotikum, sofern bekannt bzw. verabreicht

Da Harnwegsinfekte bei vulnerablen Urogenitalsystem häufig auftreten, müssen diese den Grad der Immunsuppression nicht widerspiegeln. Das Gleiche gilt auch

für Infektionen, die mit der Nierentransplantation nicht unbedingt in Verbindung stehen (z.B. Appendizitis). Virale Infekte mit Zytomegalie- (CMV), Humanem Polyomavirus (BKV) oder Herpes-Viren weisen dagegen auf eine Überimmunsuppression hin.

Aus diesem Grund wurden von den Gesamtkontakten die Infektionen herausgefiltert, die eine virale Ursache hatten:

- CMV-, BKV- Erkrankungen
- Herpes zoster-Erkrankungen

Eine CMV- bzw. BKV-Infektion wurde bei den Patienten regelmäßig während ihrer Routineuntersuchungen getestet. Dies geschah mittels CMV- bzw. BKV-qPCR aus dem Urin und dem Serum. Die Nachweisgrenze liegt bei beiden Viren bei 200 DNA-Kopien pro ml Plasma bzw. Urin.

Bei überschrittener Nachweisgrenze von 200 DNA-Kopien/ml wurde dies als Infekt gewertet.

2.3. Ausschluss von Patienten

Von den ausgewählten Patienten wurden insgesamt 20 Patienten ausgeschlossen:

- 1 Patient verstarb drei Monate nach der Transplantation an einem Subduralhämatom
- 2 Patienten wurden aufgrund einer späteren Thymoglobulingabe ausgeschlossen
- Bei 1 Patienten war der zeitliche Abstand zwischen der Transplantation und der Abnahme der Probe P4 unter 30 Tagen und damit zu kurz
- Bei 13 Patienten waren die Daten nicht vollständig, weshalb sie nicht in die Auswertung einbezogen wurden
- Bei 3 Patienten war eine Delayed Graft Function (DGF) festzustellen, bei zweien wurde noch im Beobachtungszeitraum eine Transplantat-Nephrektomie durchgeführt

Eine DGF wurde als fehlende Funktionsaufnahme des Transplantats definiert, die eine Dialysetherapie in der ersten Woche nötig machte [119].

Somit blieben 70 Patienten, deren Daten untersucht werden konnten.

2.4. Erhobene Laborwerte

Aus der Blutprobe wurden für die Studie die folgenden Parameter bestimmt:

- Konzentration der Mycophenolsäure (MPA) in mg/l
- Konzentration der freien Mycophenolsäure (fMPA) in µg/l
- Anteil der freien Mycophenolsäure (%fMPA) in %
- Konzentration der MPA-Metaboliten Mycophenolat-Glucuronid (MPAG) und MPA-Acylglucuronid (AcMPAG) in µg/l
- Expression von CD26 auf CD3-, CD4- und CD8-T-Zellen, angegeben als % positive Zellen
- DPPIV-Aktivität in U/l

Aus den Labordaten wurden zum Zeitpunkt der Probeentnahme zusätzlich (soweit vorhanden) erfasst:

- Leukozytenzahl pro µl
- Kreatinin in mg/dl
- CMV- und BKV-Nachweis (sofern vorhanden)
- Tacrolimus- bzw. Ciclosporin-Talspiegel in µl/l
- Errechnete Glomeruläre Filtrationsrate in ml/min

Die GFR wurde immer mit der vereinfachten Formel der MDRD-Studie [120] aus Kreatinin und Alter unter Berücksichtigung des Geschlechts und der Hautfarbe berechnet, da die GFR nicht durchgängig in den Laborblättern dargestellt war.

2.5. Analyse der Biomarker

2.5.1. Analyse der Oberflächenmarker

Die CD26-Expression auf den T-Zellen wurde mittels Durchflusszytometrie vom Routinepersonal des Zentralinstituts für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin bestimmt. Hierfür wurden Antikörper gegen CD3, CD4, CD8, CD26 und CD45 verwendet, die mit Fluorochromen gekoppelt sind und von der Firma Beckmann Coulter bezogen wurden.

Die Antikörper wurden bei 480 nm angeregt. Tabelle 2 führt die Farbstoffe und den Emissionsbereich auf:

Tab. 2: Antikörper, Farbstoff und Emissionsbereich bei der Durchflusszytometrie der Oberflächenmarker

Antikörper	Farbstoff	Emissionsbereich
Anti-CD3	PE-Cy7 (PC7)	767 nm
Anti-CD4	Fluorescein Isothiocynat (FITC)	494 nm
Anti-CD8	PE-TexasRed (ECD)	615 nm
Anti-CD26	R-Phycoerythrin (PE)	575 nm
Anti-CD45	PE-Dy5 (PC5)	670 nm

50 µl des EDTA-Vollbluts wurden in ein Röhrchen pipettiert. Dann wurden die Antikörper hinzugefügt (5 µl C4-FITC, 5 µl CD26-PE, 2,5 µl CD8-ECD, 2,5 µl CD45-PC5 und 2,5 µl CD3-PC7) und mittels Vortex-Mischer gemischt. Nach einer 15-minütigen Inkubation in der Dunkelheit bei Raumtemperatur (+15 bis +25°C), wurden Erythrozyten im Gerät TQ-Prep® der Firma Beckmann Coulter lysiert. Hierfür wurde ein Lysereagenz hinzugefügt, das aus Versalyse und Fixative Solution im Verhältnis 40 + 1 bestand. Dann folgte ein zweimaliger Waschvorgang mit Isoton II. Für die Resuspension wurden dann 600 µl Isoton II mit Fixative Solution (wieder im Verhältnis 40 + 1) benutzt.

Nach dieser Vorbereitungsphase wurde die Probe im Durchflusszytometer FC500® (ebenfalls von der Firma Beckmann Coulter) analysiert. Nach Anregung der Zellen mittels Argon-Laser wurde der Emissionsbereich der Zellen aufgezeichnet und in entsprechenden Diagrammen dargestellt.

2.5.2. Analyse der DPPIV-Aktivität

Die DPPIV-Aktivität wurde mittels Spektralphotometrie von Frau Eva Altröck gemessen.

Hierfür wurden 20 µl Patientenserum mit 10 µl des DPPIV-Substrats Gly-Pro-p-Nitroanilid (Firma Sigma Chemie) und mit 170 µl M TRIS-HCl, welches einen pH-Wert von 8,0 hatte, versetzt. Die Menge des durch DPPIV abgespaltenen p-Nitroanilid wurde über 10 Minuten im Spektralphotometer bei 405 nm gemessen.

Von diesem Extinktionsanstieg konnte die DPPIV-Aktivität abgeleitet werden [121, 122].

2.6. Analyse der Immunsuppressiva

2.6.1. Tacrolimus

Es wurde der Tacrolimus-Talspiegel aus EDTA-Vollblut mittels Massenspektrometrie routinemäßig mit einer validierten Methode [123] von technischen Assistentinnen des Zentralinstituts für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin bestimmt. Der Hersteller der hierfür verwendeten LC/MS/MS-Anlage, bestehend aus dem Alliance® 2695 LC-System und dem Quattro micro®-Massenanalysator, war die Firma Waters.

Die Vollblutprobe wurde mit Zinksulfat und Acetonitril präzipitiert und der Überstand chromatografisch aufgetrennt. Anschließend erfolgte die Analyse der spezifischen Massenübergänge, im Fall von Tacrolimus ein Massenübergang von 821,4-768,45 m/z. Mitgeführt wurde als interner Standard, Ascomycin, das einen Massenübergang bei 809,4-756,45 m/z hat [124]. Die interne Qualitätskontrolle wurde mit kommerziellen Kontrollen der Firma Chromsystems durchgeführt. Für die externe Qualitätskontrolle wurde an einem Ringversuch der Firma Analytical Services International Ltd. (ASI Ltd.) teilgenommen.

2.6.2. MPA, fMPA, MPAG und AcMPAG

Für die Plasmakonzentrationen von Mycophenolsäure (MPA), freier Mycophenolsäure (fMPA) und der Metaboliten Mycophenolsäure-Glukuronid (MPAG) sowie Acylglukuronid der Mycophenolsäure (AcMPAG) wurde die Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) benutzt. Die Untersuchung erfolgte mit einer validierten HPLC-Messmethode mit UV-Detektion [125].

Hierfür wurden 2 ml EDTA-Vollblut 10 Minuten lang bei 4000 U/min und 20°C zentrifugiert und das Plasma anschließend in 1,5 ml Eppendorf-Gefäße abpipettiert. Bis zur Analyse wurden die Proben bei -20°C eingefroren.

Das aufgetaute Plasma wurde mit dem internen Standard Carboxy-Butoxy-Äther der Mycophenolsäure (MPAC) gemischt und dann einer Proteinpräzipitation mit Perchlorsäure und Natriumwolframat unterzogen. Nach fünfminütiger Zentrifugation in einer Eppendorfszentrifuge (13000 Upm) wurden 50 µl des Überstands in die HPLC-Anlage (Thermo Fisher) injiziert. Die Trennung von MPA und AcMPAG erfolgte über eine Zorbax Eclipse XDB-C8 Säule (WiCom GmbH). Zur Messung von fMPA wurden 300 µl Plasma in eine Centrifree® Micropartition-System (Amicon) pipettiert und für 40 min bei 200 g und 200°C zentrifugiert. Das Ultrafiltrat (100µl) wurde dann mit dem internen Standard gemischt und in die HPLC-Anlage injiziert.

Die interne Qualitätskontrolle wurde mit kommerziellen Kontrollen der Firma Chromsystems durchgeführt. Für die externe Qualitätskontrolle wurde an einem Ringversuch der Firma Analytical Services International Ltd. (ASI Ltd.) teilgenommen. Die Messung erfolgte durch technische Assistentinnen des Zentralinstituts für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin.

2.7. Weitere Analyten und Nachweis von Viren

2.7.1. Leukozyten

Die Leukozytenzahl wurde im Rahmen der automatisierten Erstellung des kleinen Blutbildes gemessen. Hierfür kommt im Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Autoanalyser Advia 2120 der Firma Siemens zum Einsatz. Die Messung und Differenzierung der Leukozyten beruht auf dem Prinzip der Streuung im Laserlichtstrahl und zytochemischen Reaktionen. Das Labor führt die gesetzlich vorgeschriebene interne und externe Qualitätskontrolle nach der Richtlinie der Bundesärztekammer zu Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (RiliBÄK) durch [126].

2.7.2. Kreatinin

Die Kreatinin-Messungen erfolgten im Plasma enzymatisch (Kreatinkinase, Kreatinase, Sarkosinoxidase, Peroxidase). Das hierfür verwendete Reagenz und Gerät Dimension Vista wurde von der Firma Siemens Healthcare hergestellt.

Das Labor führt die gesetzlich vorgeschriebene interne und externe Qualitätskontrolle nach der Richtlinie der Bundesärztekammer zu Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (RiliBÄK) durch [126].

2.7.3. CMV und BKV

Der quantitative Nachweis von CMV und BKV im Urin und Serum geschah durch die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) mit validierten In-Haus-Methoden auf dem LightCycler-Instrument der Firma Roche Diagnostics. Die Nachweisgrenze beider Methoden lag bei 100 DNA-Kopien/ml Urin bzw. Plasma. Beide Methoden werden in der Routinediagnostik eingesetzt, und es wurde wie oben beschrieben die gesetzlich vorgeschriebene interne und externe Qualitätskontrolle nach der RiliBÄK durchgeführt [126].

2.8. Standardimmunsuppression und weitere Medikamente

2.8.1. Immunsuppressive Medikamente

Am Operationstag wurde eine Induktionstherapie mit 20 mg Basiliximab i.v. und 250 mg Prednisolon i.v. durchgeführt. Dies geschah ca. 4 Stunden vor der Transplantation. 6 Stunden nach der Operation erhielten die Patienten erneut 250 mg Prednisolon i.v.

Am ersten postoperativen Tag wurden 50 mg i.v. gegeben und die Basistherapie mit Tacrolimus (0.1 mg/kg/Tag in 2 Dosen p.o.) und Mycophenolsäure (2x 720 mg p.o.) gestartet.

Prednisolon wurde am 2. Tag nach der Transplantation auf 0,5 mg/kg reduziert.

Am 4. Tag wurde erneut 20 mg Basiliximab i.v. verabreicht.

Die gezielte Reduktion von Prednisolon begann am 15. postoperativen Tag. Es wurden 20 mg/Tag gegeben. Nach 2 Wochen wurde diese Dosis auf 15 mg/d und dann alle 2 Wochen um 2,5 mg gesenkt, bis nach 3 Monaten die Erhaltungsdosis von 5 mg/d erreicht war.

Die Standard-Tripel-Therapie bestand also aus Tacrolimus, Mycophenolat und Prednisolon, wobei die Tacrolimus-Dosierung anhand des gemessenen Talspiegels (der bis zum 90. Tag 6-8 µg/l und anschließend 4-6 µg/l sein sollte) angepasst wurde. Mycophenolsäure wurde ab dem vierten Monat auf 3x 500 mg und dann nach einem Jahr auf 2x 500 mg reduziert.

Hochrisiko-Patienten erhielten ebenfalls die Standardtherapie. Lediglich bei einem LCT PRA über 85% oder dem Nachweis von donorspezifischen Antikörpern schon vor der Transplantation wurde eine Induktionstherapie mit ATG begonnen. Aufgrund der ATG-Therapie wurden diese Patienten von der Studie ausgeschlossen.

2.8.2. Andere Medikamente

Zusätzlich zu den Immunsuppressiva wurden verschiedene Medikamente verabreicht.

Im Falle einer CMV-Risikokonstellation, d.h. CMV-negativem Empfänger und CMV-positivem Spender, erhielten die Patienten prophylaktisch 6 Monate lang Gancyclovir i.v. bzw. Valgancyclovir p.o.

Die Vorbeugung gegen *Pneumocystis-jirovecii*-Pneumonie wurde mit Cotrimoxazol durchgeführt.

Außerdem wurden die Patienten antibiotisch abgedeckt, erhielten Schmerzmittel und bekamen eine Thromboseprophylaxe verabreicht. Je nach Blutdruck und Blutzucker wurden entsprechende Antihypertonika und Antidiabetika verabreicht. Die Vormedikation der Patienten wurde nach Bedarf und Vorerkrankung beibehalten.

2.8.3. Immunsuppression bei Abstoßungsreaktion

Wenn die Abstoßungsreaktion histologisch gesichert und nach BANFF-Klassifikation evaluiert war, wurde eine differenzierte Therapie eingeleitet [127, 128]:

- Bei antikörpervermittelter Abstoßung wurde eine Plasmapherese und Immunglobulingabe durchgeführt.
- Die Borderline-Rejektion wurde mit einer Kortison-Stoßtherapie behandelt. Es wurden 250 – 500 mg Prednisolon als Kurzinfusion über 3-5 Tage gegeben.
- Die akute biopsiegesicherte T-Zell-vermittelte Abstoßung wurde im Fall von Banff Ia, Ib und IIa mit einer Kortison-Stoßtherapie und zusätzlich mit einer Erhöhung des Tacrolimus-Spiegels behandelt. Bei Banff IIb und III kam hier zusätzlich die Thymoglobulin-Gabe hinzu.
- Bei steroidresistenten Abstoßungsreaktionen wurde mit Thymoglobulin behandelt.

2.9. Statistik und Tabellen bzw. Abbildungen

Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm MedCalc® der Firma MedCalc Software bvba (Oostende, Belgien) vorgenommen.

Mit Hilfe des Wilcoxon-Tests wurden die abhängigen Variablen berechnet.

Die Berechnung der unabhängigen Variablen erfolgte mit dem Mann-Whitney-U-Test.

Die Korrelationsanalysen erfolgten durch Berechnung des Spearman's Rangkorrelationskoeffizienten Rho.

Die signifikanten Ergebnisse wurden mit einer ROC-Analyse verifiziert und die ROC-Kurve dargestellt.

Bei einem p-Wert von $< 0,05$ wurde von einem statistisch signifikanten Unterschied ausgegangen. Ein Ergebnis von $Rho > +0,7 / < -0,7$ wurde als gute Korrelation gesehen, $Rho > +0,9 / < -0,9$ als sehr gute Korrelation.

Die Abbildungen wurden meist im Programm MedCalc® erstellt und mit Microsoft PowerPoint® verändert. Die Tabellen entstanden direkt in Microsoft Word®.

3. ERGEBNISSE

3.1. Patientenkollektiv

Die 70 in die Studie eingeschlossenen Patienten waren im Median 52,5 Jahre alt. Der jüngste war 20 Jahre, der älteste 72 Jahre alt. Mit 38 Männern und 32 Frauen war die Geschlechterverteilung relativ ausgeglichen. Auch die Altersverteilung war in den beiden Gruppen sehr ähnlich. Die männlichen Patienten waren im Median 55 (22-72) Jahre, die weiblichen Patienten 49 (20-69) Jahre alt. Der Abstand zwischen Transplantationsdatum und Abnahmezeitpunkt der Blutprobe P4 lag zwischen 30 und 383 Tagen, im Median 160 Tage.

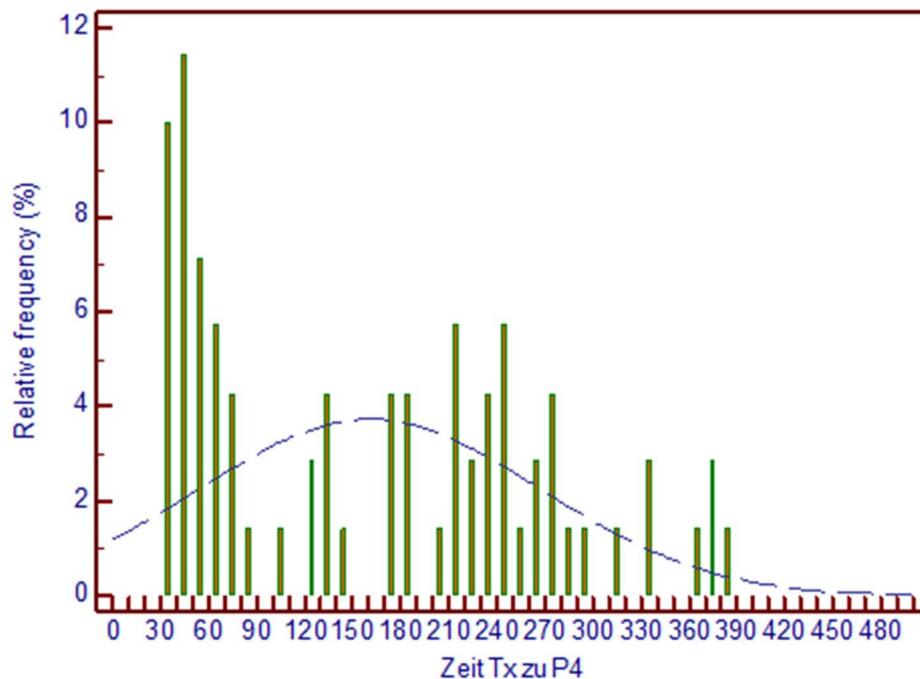


Abb. 4: Abstand in Tagen zwischen Transplantationsdatum und Abnahmezeitpunkt P4

Tx = Transplantationsdatum

P4 = Zeitpunkt der Blutprobe der späteren Phase

Für 60 Patienten war es die erste Nierentransplantation. Zehn Patienten waren zuvor schon einmal transplantiert worden. Keiner der Probanden hatte mehr als eine Vortransplantation. In 42 der Fälle war eine Leichenniere transplantiert worden. Eine Lebendspende konnte 28 Mal erfolgen. Es fielen 29 Patienten in

die Gruppe der Hochrisikopatienten. Sie waren älter als die übrigen Patienten ($p=0,04$).

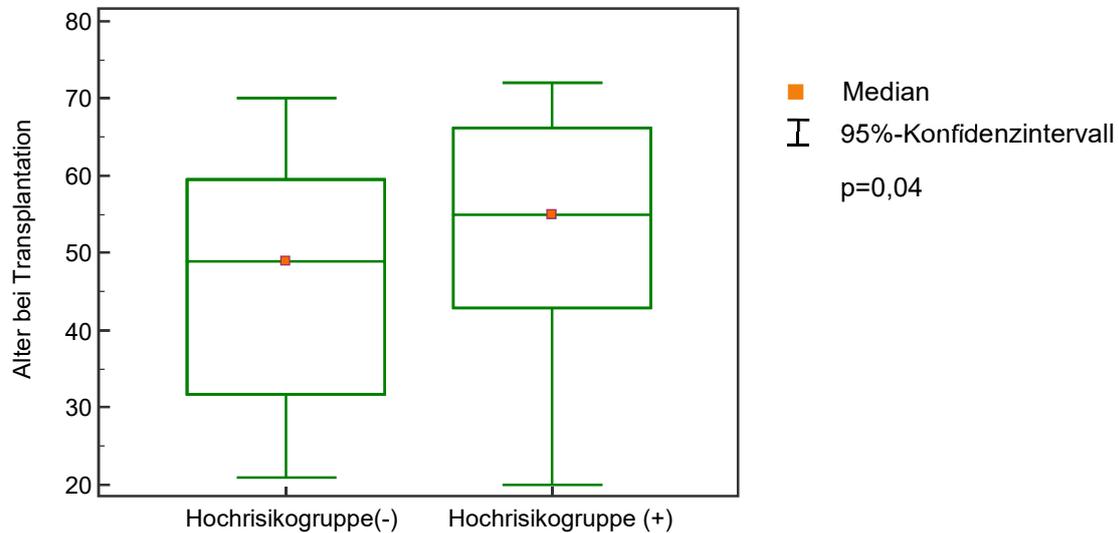


Abb. 5 Alter der Patienten mit hohem und niedrigem immunologischen Risiko (Box-Whisker-Blot)

Hochrisikogruppe(-) = niedriges immunologisches Risiko

Hochrisikogruppe(+) = hohes immunologisches Risiko, d.h. Hochrisikopatient

Die 3 häufigsten Ursachen für die Niereninsuffizienz waren eine Glomerulonephritis ($n=15$), eine IgA-Nephropathie bzw. IgA-Nephritis ($n=10$) und die autosomal-dominante polyzystische Nierenerkrankung/AKPKD ($n=8$). Bei 14 Patienten war die Grunderkrankung unklar.

In Tabelle 3 sind die Grunderkrankungen aufgeführt. Die Gesamtzahl von 73 ergibt sich aufgrund möglicher Mehrfachnennungen.

Tab. 3: Grunderkrankungen der Patienten

Grunderkrankung	Anzahl	Anteil in %
Glomerulonephritis	15	20,5
Unklare Ursache	14	19,2
IgA-Nephritis/-Nephropathie	10	13,7
AKPDK	8	11
Nephrosklerose	6	8,2
Refluxnephropathie	3	4,1
Diabetische Nephropathie Chronische Pyelonephritis Interstitielle Nephritis Obstruktive Uropathie	je 2	je 2,7
Balkannephritis Zystische Nierendegeneration Vaskuläre Nephropathie Lithotripsie Analgetikanephropathie Nierenagenesie HUS Schrumpfnieren Polyzystische Nierendegeneration vom infantilen Typ	je 1	je 1,4

AKPDK = autosomal-dominante polyzystische Nierenerkrankung

HUS = hämolytisch urämisches Syndrom

3.1.1. Klinische Ereignisse

Bei 15 der Patienten trat im Beobachtungszeitraum eine Leukopenie auf. Die Leukopenie-Patienten waren im Vergleich jünger als die Patienten, bei denen keine Leukopenie auftrat ($p=0,01$).

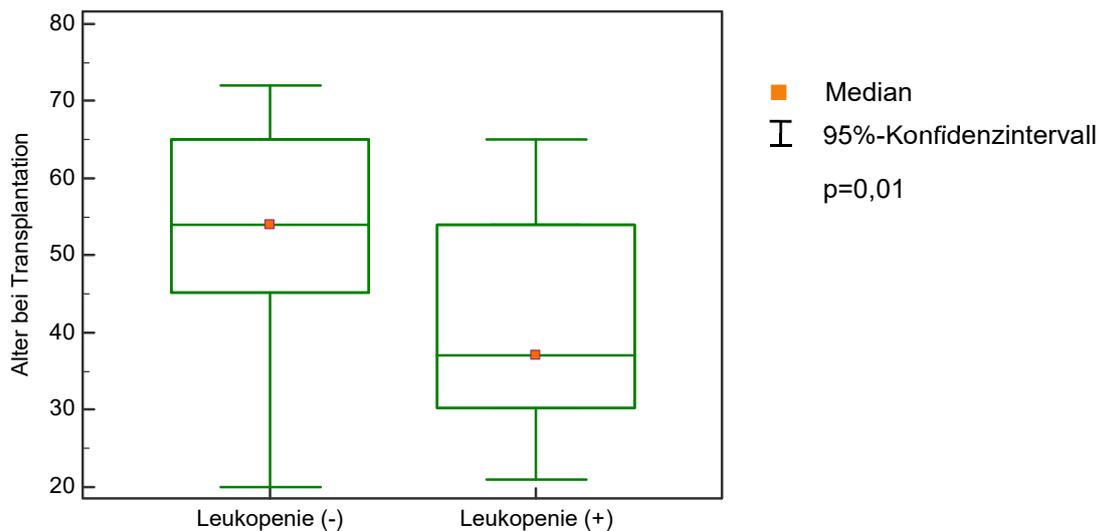


Abb. 6: Alter der Patienten ohne und mit Leukopenie im Beobachtungszeitraum nach P4 (Box-Whisker-Blot)

(-) = kein Ereignis

(+) = stattgefundenes Ereignis

Fünf Patienten hatten im Beobachtungszeitraum mindestens eine Abstoßungsreaktion, die mit Kortikoiden behandelt werden musste.

Bei der Krankenhausentlassung nach erfolgreicher Transplantation war das Kreatinin im Blut im Median bei 1,3 mg/dl (0,5 bis 5,6 mg/dl), und ein Jahr nach Transplantation war das Kreatinin im Durchschnitt ebenfalls bei 1,3 mg/dl (0,7 bis 4,1 mg/dl).

Im 2-Monats-Zeitraum war der Kreatinin-Wert bei den Patienten mit aufgetretener Leukopenie tendenziell, aber nicht signifikant, höher ($p=0,0640$) als bei den Patienten ohne Leukopenie.

Bei der GFR war dieser Unterschied im 2-Monats-Zeitraum sogar signifikant ($p=0,0192$). Im Verlauf war die GFR im Median von 50 an Tag 14 auf 43 an P4 leicht gesunken ($p=0,05$).

In der Leukopenie-Gruppe lagen niedrigere GFR-Werte vor. Im 6-Monats-Zeitraum konnte dies allerdings nicht mehr bestätigt werden.

In 38 Fällen hatten die Patienten einen Infekt. Ein Harnwegsinfekt war hier die häufigste Ursache. Andere Infekte, z.B. Pneumonien, traten in 29 Fällen auf.

3.1.2. Infektionen, Erreger und antibiotische Therapie

Zur Gruppe der Gesamtkontaminationen wurden alle Infektionen gezählt, die im Beobachtungszeitraum aufgetreten waren. Die meisten Infektionen waren nach Harnwegsinfekten diejenigen, die durch eine BKV-Infektion (n=18) oder eine Cytomegalievirus-Infektion (n=10) verursacht wurden. In 3 Fällen hatten Patienten einen Herpes zoster und dreimal waren die Ursachen anderer Natur (Appendizitis mit nachfolgender Appendektomie, Angina tonsillaris und Glomerulonephritis unklarer Genese).

In 16 Fällen waren bakterielle Erreger nachzuweisen.

Tab. 4: Bakterielle Erreger

Erreger	Anzahl	Anteil in %
Escherichia coli	5	31,3
Klebsiella pneumoniae	3	18,8
Enterococcus faecalis	2	12,5
Proteus mirabilis Clostridium difficile Enterococcus faecium Salmonella typhimurium Pseudomonas aeruginosa Campylobacter jejuni	je 1	6,3

Die antibiotische bzw. virostatika Abdeckung erfolgte in den meisten Fällen mit Ciprofloxacin und Amoxicillin.

Tab. 5: Verabreichte Antibiotika

Antibiotikum	Anzahl	Anteil in %
Ciprofloxacin	10	25,6
Amoxicillin	8	20,5
Cefpodoxim Meropenem	5	12,8
Ceftriaxon	3	7,7
Metronidazol Aciclovir	2	5,1
Linezolid Clarithomycin Levofloxacin Unbekannt	1	2,6

3.2. Biomarker

Der prozentuelle Anteil der CD3-, CD4- und CD8-T-Lymphozyten, die CD26 tragen, ist in Tabelle 6 zusammengefasst. In derselben Tabelle ist auch die DPPIV-Aktivität in U/ml gelistet.

Die Probenanzahl ergibt sich i.d.R. aus der Anzahl der Patienten.

Da für die Messungen Restproben der Routineuntersuchung genutzt wurden, war für die Bestimmung der Biomarker teilweise zu wenig Material vorhanden. Vor allem bei der DPPIV-Aktivität sind daher weniger Proben vorhanden als Patienten in die Studie eingeschlossen wurden.

Tab. 6: CD26 positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4

P4	Probenanzahl	Median	Minimum	Maximum	95%-Konfidenzintervall
CD3+/CD26+ %	70	6,8	1,7	30,2	5,8-9,5
CD4+/CD26+ %	70	5,1	0,7	25,3	3,8-6,9
CD8+/CD26+ %	70	1,9	0,2	10,5	1,5-2,4
DPPIV-Aktivität U/ml	66	47,2	28	90,9	42,3-54,5

P4 = Blutprobe der späteren Phase

CD3+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD3-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD4+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD4-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

3.2.1. Verlauf der untersuchten Biomarker in der frühen und späteren Phase

Mit Hilfe des Wilcoxon-Tests wurde geprüft, ob sich die Expression bzw. Aktivität der Biomarker in der frühen Phase und der späteren Phase nach Nierentransplantation unterschieden.

Die Daten von Tag 0 bis Tag 14 stammen von der Vorgänger-Studie von Fr. Dr. Leicht [76]. Die Daten der Blutprobe P4 der späteren Phase sind farblich hervorgehoben.

Wenn das Ergebnis signifikant war, wurde in den Abbildungen der P-Wert angegeben.

Bei fehlender Markierung lag kein signifikantes Ergebnis vor, d.h. der P-Wert war über 0,05.

Der Verlauf von CD3+/CD26+ % zeigte einen signifikanten Abfall zwischen Tag 14 und P4. Der Vergleich der Tage 0, 3 und 7 zu P4 war nicht signifikant.

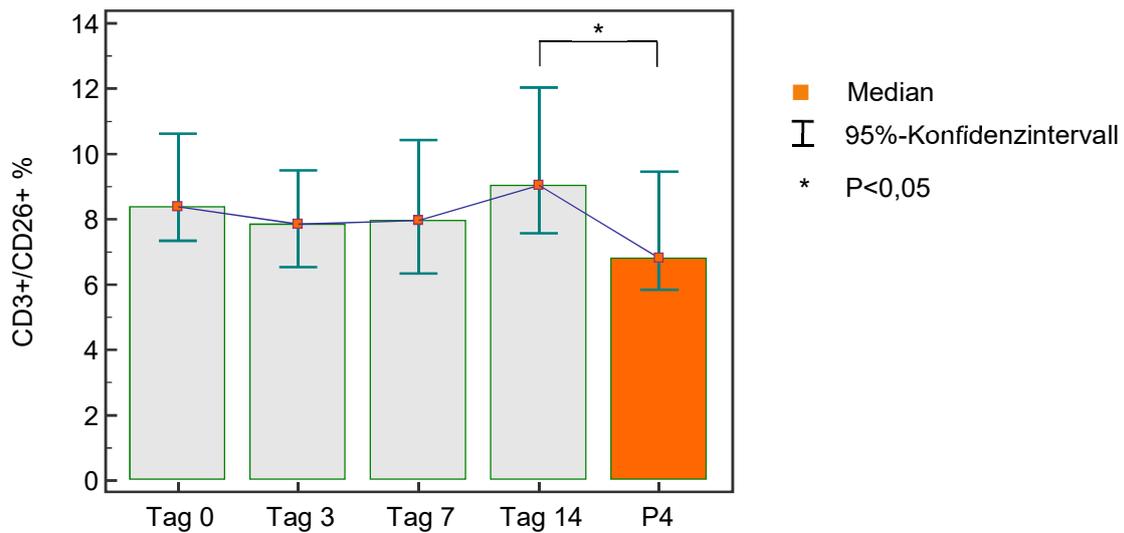


Abb. 7: Verlauf von CD3+/CD26+ %

CD3+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD3-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen
P4 = Blutprobe der späteren Phase

Bei CD4+/CD26+ % war im Verlauf zwischen Tag 14 und P4 ein signifikanter Abfall zu sehen ($p=0,002$).

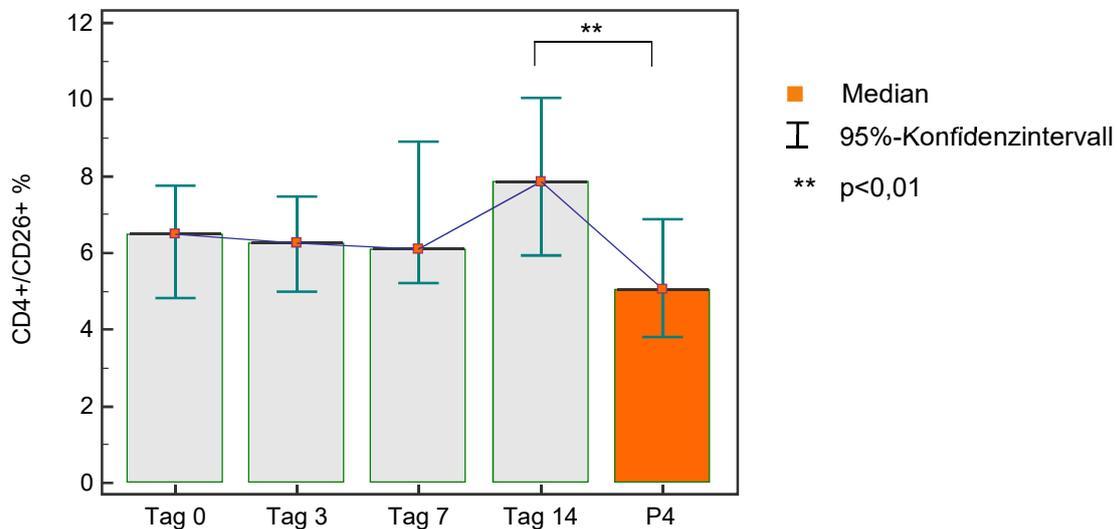


Abb. 8: Verlauf von CD4+/CD26+ %

CD4+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD4-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen
P4 = Blutprobe der späteren Phase

Bei CD8+/CD26+ % war kein signifikanter Unterschied zwischen Tag 14 und P4 zu sehen. Lediglich von Tag 3 zu P4 zeigte sich ein signifikanter Anstieg ($p=0,02$).

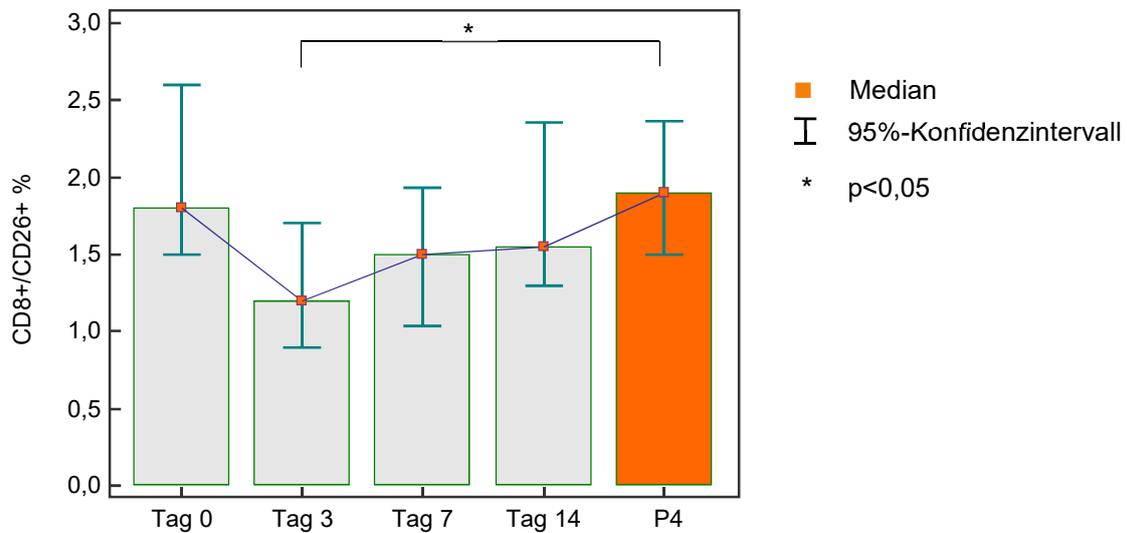


Abb. 9: Verlauf von CD 8+/CD26+ %

CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen
P4 = Blutprobe der späteren Phase

Auch bei der DPPiV-Aktivität war der Unterschied von Tag 14 zu P4 nicht signifikant. Zwischen Tag 0 und P4 und zwischen Tag 3 und P4 war der Abfall der DPPiV-Aktivität signifikant.

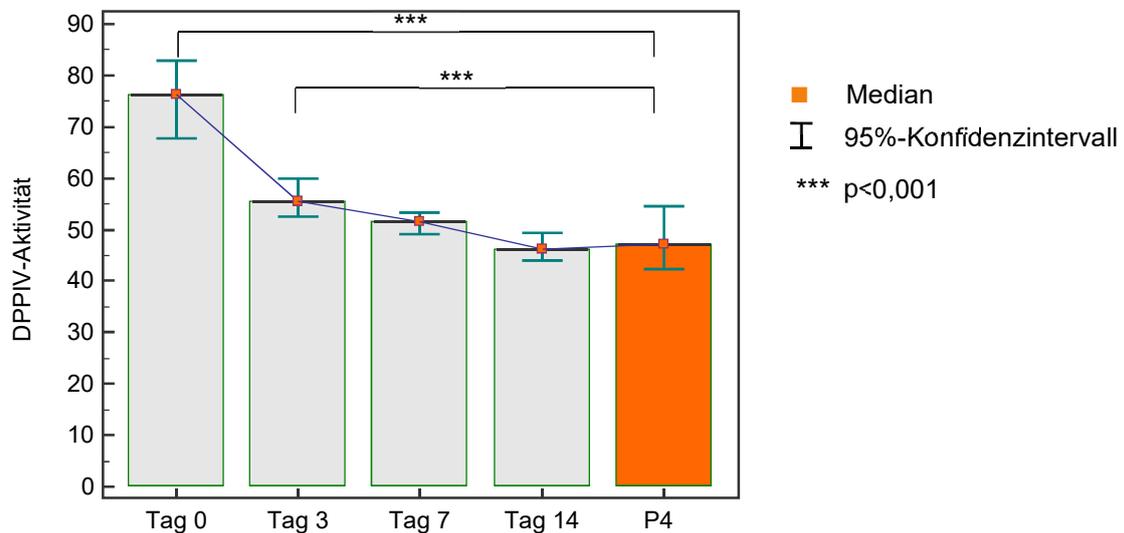


Abb. 10: Verlauf der DPPiV-Aktivität U/ml

P4 = Blutprobe der späteren Phase

3.2.2. Vergleich der Biomarker in den verschiedenen Patientengruppen

3.2.2.1. Geschlecht

Es zeigte sich in Hinsicht auf die Biomarker zum Zeitpunkt P4 kein signifikanter Unterschied zwischen dem Geschlecht der Patienten.

Tab. 7: CD26 positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 bei Männern und Frauen

P4	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	M	W	M	W	M	W	M	W	M	W
CD3+/CD26+ %	36	34	6,4	8,4	1,7	2,1	30,2	29,2	4,6-9,8	5,8-12,2
CD4+/CD26+ %	36	34	4,1	5,6	0,9	0,7	23,9	25,3	3,5-7,8	3,8-7,7
CD8+/CD26+ %	36	34	1,7	2,0	0,2	0,6	6,1	10,5	1,3-2,4	1,5-2,7
DPPIV-Aktivität U/ml	34	32	52,7	44,9	32,3	28,0	90,9	66,5	40,9-58,0	10,9-54,3

P4 = Blutprobe der späteren Phase

CD3+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD3-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD4+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD4-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

M = männlich, W = weiblich

3.2.2.2. Hochrisikogruppe

Der Vergleich der Patienten mit normalem und hohem Risiko zeigte bezüglich der Biomarker zum Zeitpunkt P4 ebenfalls keinen signifikanten Unterschied.

Tab. 8: CD26 positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 bei Patienten mit normalem und hohem Risiko

P4	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	NR	HR	NR	HR	NR	HR	NR	HR	NR	HR
CD3+/CD26+ %	29	41	8,8	6,3	3,1	1,7	29,2	30,2	6,1-12,6	4,9-9,1
CD4+/CD26+ %	29	41	5,6	4,2	1,9	0,7	25,3	23,9	3,8-8,7	3,6-5,8
CD8+/CD26+ %	29	41	2,2	1,7	0,6	0,2	7,6	10,5	1,6-3,2	1,3-2,2
DPPIV-Aktivität U/ml	27	39	47,1	48,1	32,3	28,0	70,6	90,9	40,3-55,7	42,2-55,2

P4 = Blutprobe der späteren Phase

CD3+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD3-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD4+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD4-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

NR = normales Risiko, HR = Hochrisiko

3.2.2.3. Postmortal vs Lebendspende

Es zeigte sich in Hinsicht auf die Biomarker zum Zeitpunkt P4 kein signifikanter Unterschied zwischen der Art der Transplantation.

Tab. 9: CD26 positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 bei Patienten mit postmortaler Spende und Lebendspende

P4	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	PM	LS	PM	LS	PM	LS	PM	LS	PM	LS
CD3+/CD26+ %	42	28	6,4	9,1	2,1	1,7	30,2	25,2	4,7-8,9	5,7-13,2
CD4+/CD26+ %	42	28	4,2	6,0	0,7	0,9	25,3	18,6	3,6-5,6	3,8-8,7
CD8+/CD26+ %	42	28	1,8	2,1	0,2	0,2	7,6	10,5	1,1-2,4	1,6-3,0
DPPIV-Aktivität U/ml	41	25	48,5	47,1	28,0	32,5	90,9	84,9	41,0-54,8	41,0-56,4

P4 = Blutprobe der späteren Phase

CD3+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD3-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD4+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD4-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

PM = postmortale Spende, LS = Lebendspende

3.2.2.4. Ersttransplantation vs Vortransplantation

Patienten, die vortransplantiert sind, haben ein höheres Gefährdungspotential als die Empfänger, die zum ersten Mal transplantiert werden.

Bei den Biomarkern zum Zeitpunkt P4 war allerdings kein signifikanter Unterschied messbar abhängig davon, ob die Patienten ihre erste Transplantation bekamen oder ob sie schon vortransplantiert waren.

Tab. 10: CD26 positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 bei Ersttransplantation und Vortransplantation

P4	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	E	V	E	V	E	V	E	V	E	V
CD3+/CD26+ %	60	10	6,5	8,4	1,7	4,3	29,2	3,02	5,7-9,7	5,5-21,8
CD4+/CD26+ %	60	10	4,2	6,5	0,7	2,8	25,3	23,9	3,7-6,3	4,5-13,8
CD8+/CD26+ %	60	10	1,8	2,2	0,2	0,2	10,5	10,4	1,4-2,3	1,2-5,0
DPPIV-Aktivität U/ml	56	10	47,7	42,1	28	35,8	84,9	90,9	43,1-54,8	38,5-56,6

P4 = Blutprobe der späteren Phase

CD3+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD3-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD4+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD4-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

E = Ersttransplantation, V = Vortransplantation

3.3. Immunsuppression

Die Konzentrationen der Immunsuppressiva Tacrolimus und Mycophenolsäure (MPA) und ihrer Metaboliten Mycophenolat-Glucuronid (MPAG) und MPA-Acylglucuronid (AcMPAG) zum Zeitpunkt P4 sind in Tabelle 11 zusammengefasst. Hier erfasst sind außerdem die freie Mycophenolsäure (fMPA) und der prozentuale Anteil der freien Mycophenolsäure (%fMPA).

Die Probenanzahl entspricht auch hier der Patientenzahl. Aufgrund von fehlendem Material oder Fehlmessungen ist die Probenanzahl teilweise geringer. Die Laborwerte-Einheiten sind für Tacrolimus µg/l, für MPA mg/l, für fMPA µg/l, für MPAG mg/l, für AcMPAG mg/l und für DPPIV U/l.

Tab. 11: Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4

P4	Probenanzahl	Median	Minimum	Maximum	95%- Konfidenz- intervall
Tac	69	6,7	2,9	16,2	5,8-7,3
MPA	66	2,6	0,5	33,2	2,9-5,4
fMPA	67	28,2	5,6	380,2	25,5-43,6
%fMPA	66	1,2	0,6	3,1	1,1-1,4
AcMPAG	48	0,2	0,0	1,3	0,1-0,3
MPAG	66	66,5	17,1	279,5	58,9-76,5

P4 = Blutprobe der späteren Phase

Tac = Tacrolimus

MPA = Mycophenolsäure

fMPA = freie Mycophenolsäure

%fMPA = prozentualer Anteil der freien Mycophenolsäure

AcMPAG = MPA-Acylglucuronid

MPAG = Mycophenolat-Glucuronid

3.3.1. Verlauf der Immunsuppression in der frühen und späteren Phase

Mit Hilfe des Wilcoxon-Tests wurde überprüft, ob ein Unterschied in der Konzentration der Immunsuppression zwischen der frühen Phase und der späteren Phase nach Nierentransplantation bestand.

Auch hier stammen die Daten von Tag 0 bis Tag 14 von der Vorgänger-Studie von Fr. Dr. Leicht [76]. Die Daten der Blutprobe P4 in der späteren Phase sind farblich hervorgehoben.

Wenn das Ergebnis signifikant war, wurde in den Abbildungen der P-Wert angegeben.

Bei fehlender Markierung lag kein signifikantes Ergebnis vor, d.h. der P-Wert war über 0,05.

Die Konzentration von MPA und fMPA war zwischen Tag 14 der frühen Phase und P4 der späteren Phase nicht unterschiedlich.

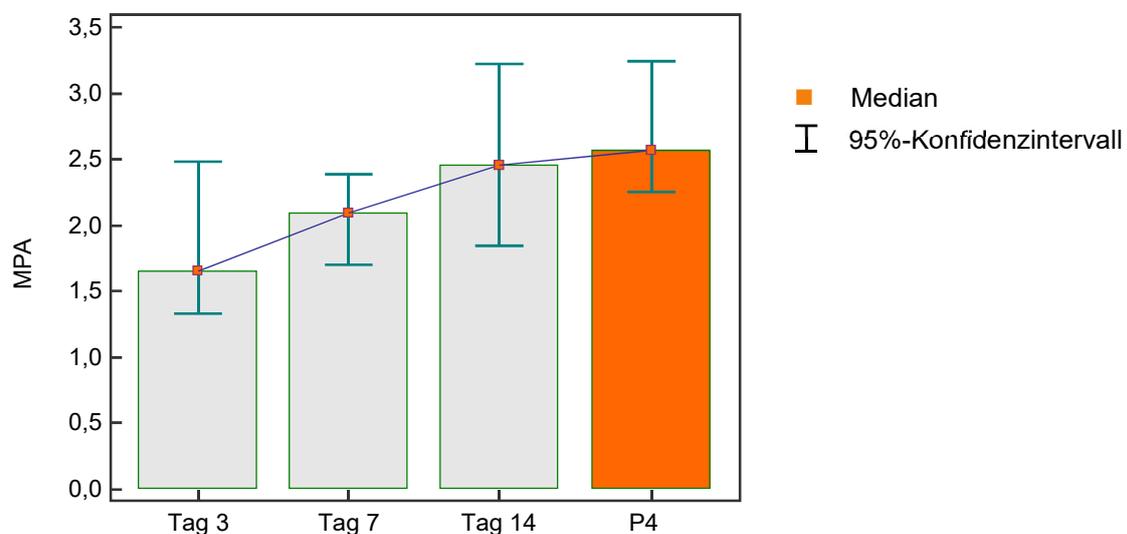


Abb. 11: Verlauf der MPA-Konzentration

MPA = Mycophenolsäure

P4 = Blutprobe der späteren Phase

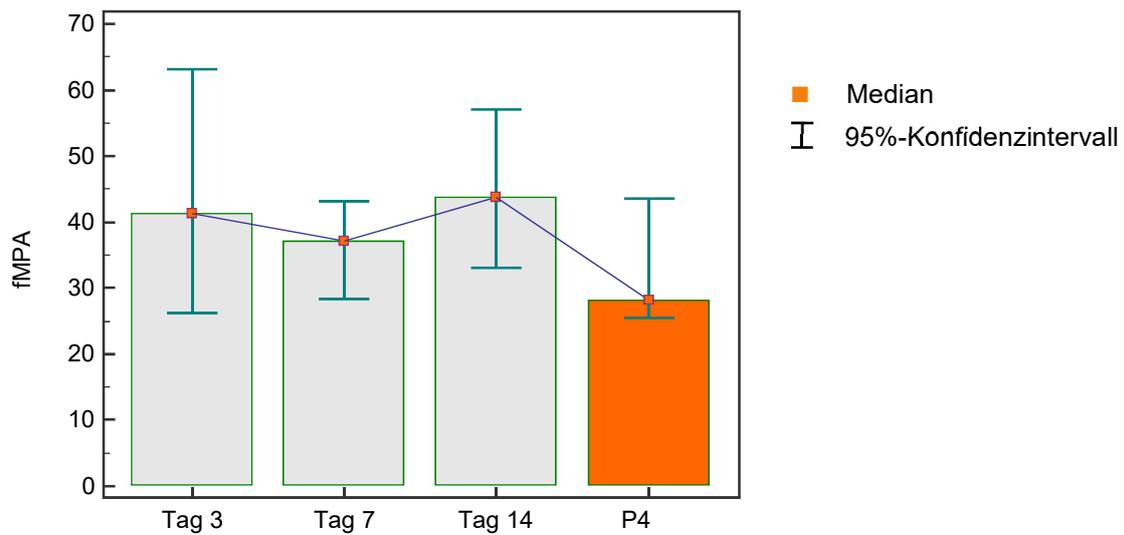


Abb. 12: Verlauf der fMPA-Konzentration

fMPA = freie Mycophenolsäure

P4 = Blutprobe der späteren Phase

Die nächste Grafik zeigt den Verlauf des prozentualen Anteils der fMPA.

In der späteren Phase waren die Konzentrationen im Vergleich zu Tag 14 signifikant niedriger ($p=0,006$).

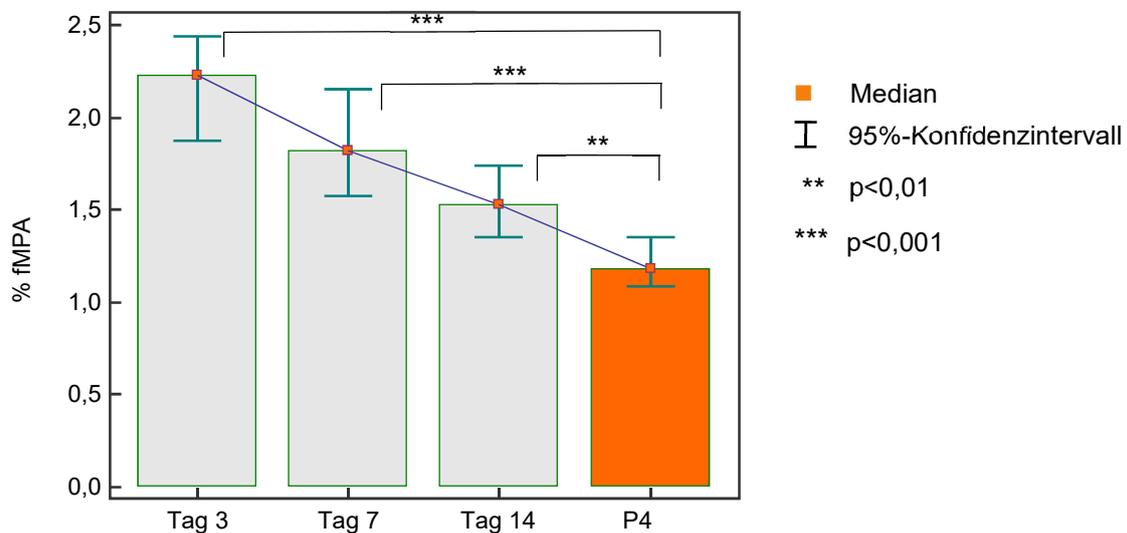


Abb. 13: Verlauf des prozentualen Anteils der fMPA (%fMPA)

%fMPA = prozentualer Anteil der freien Mycophenolsäure

P4 = Blutprobe der späteren Phase

Auch bei den Metaboliten der Mycophenolsäure, MPAG und AcMPAG, war ein signifikanter Abfall der Konzentration von Tag 14 zu P4 festzustellen.

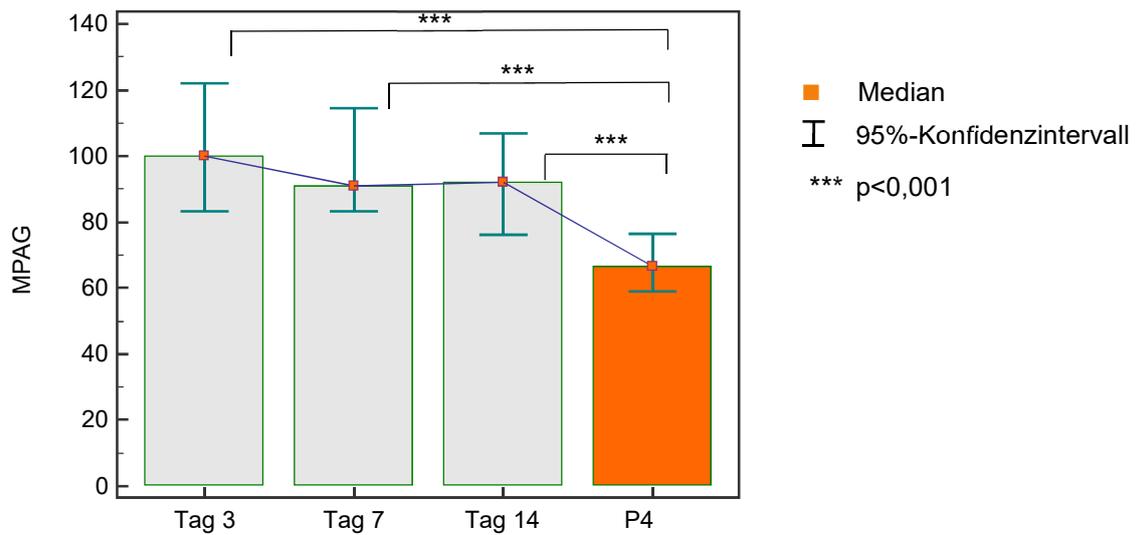


Abb. 14: Verlauf der MPAG-Konzentration

P4 = Blutprobe der späteren Phase
MPAG = Mycophenolat-Glucuronid

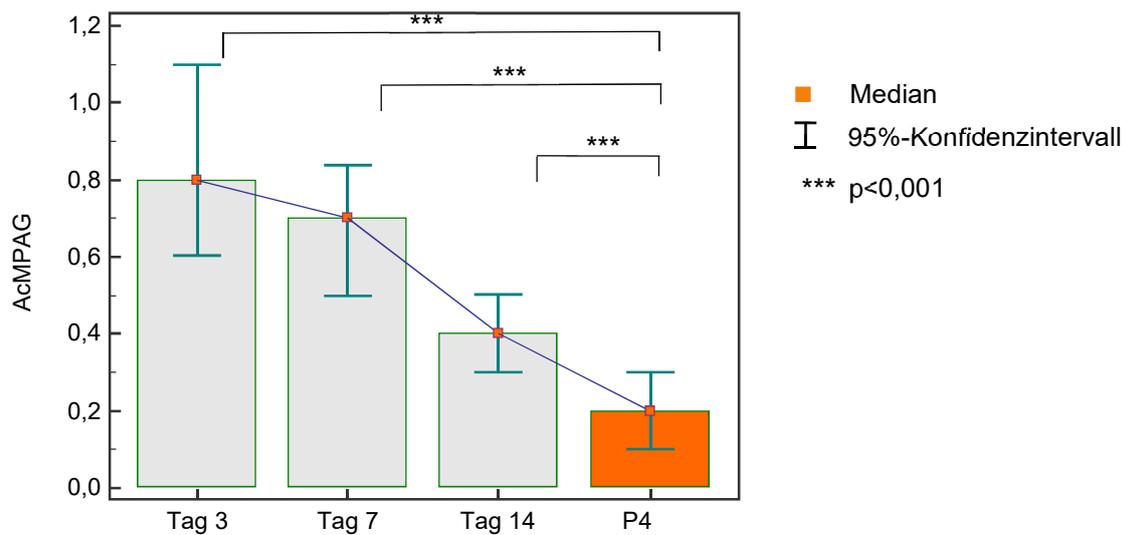


Abb. 15: Verlauf der AcMPAG-Konzentration

P4 = Blutprobe der späteren Phase
AcMPAG = MPA-Acylglucuronid

Bei der Tacrolimuskonzentration konnte zwischen Tag 14 und P4 kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

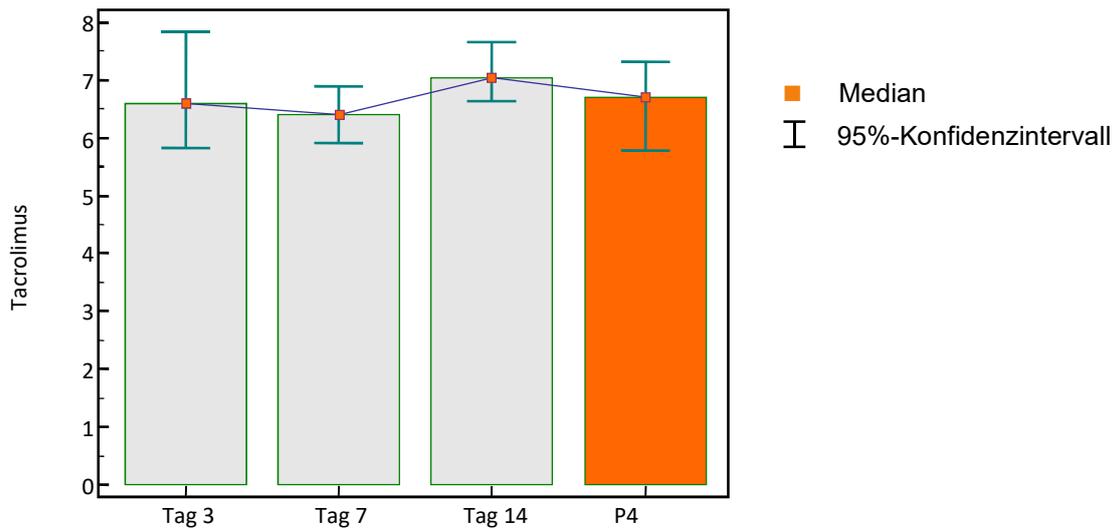


Abb. 16: Verlauf der Tacrolimus-Konzentration

P4 = Blutprobe der späteren Phase

3.4. Korrelation der Biomarker und Immunsuppression zum Zeitpunkt P4

Mit Hilfe der Spearman-Korrelationskoeffizienz wurde die Beziehung zwischen den Biomarkern und der Immunsuppression zum Zeitpunkt P4 untersucht. Diese sind in den Tabellen 12 bis 15 dargestellt.

Für die korrelierenden Parameter wurde jeweils ein Punktediagramm erstellt (Abbildungen 17 bis 22).

3.4.1. CD3+/CD26+ %

Es zeigte sich eine schwache Korrelation zwischen CD3+/CD26+ und fMPA ($Rho = -0,38, p < 0,01$). Die restlichen Parameter korrelierten nicht mit CD3+/CD26+.

Tab. 12: Korrelation von CD3+/CD26+ % mit der Konzentration der Immunsuppressiva zum Zeitpunkt P4

CD3+/CD26+ %	Probenanzahl	Rho	Signifikanzniveau	95%-Konfidenzintervall für Rho
Tac	69	-0,12	p=0,33	-0,35 bis 0,12
MPA	66	-0,21	p=0,1	-0,43 bis 0,04
fMPA	67	-0,38	p=0,001	-0,57 bis -0,16
MPAG	66	-0,09	p=0,5	-0,32 bis 0,16

CD3+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD3-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

Tac = Tacrolimus

MPA = Mycophenolsäure

fMPA = freie Mycophenolsäure

MPAG = Mycophenolat-Glucuronid

Rho = Spearman-Reihenkorrelationskoeffizient

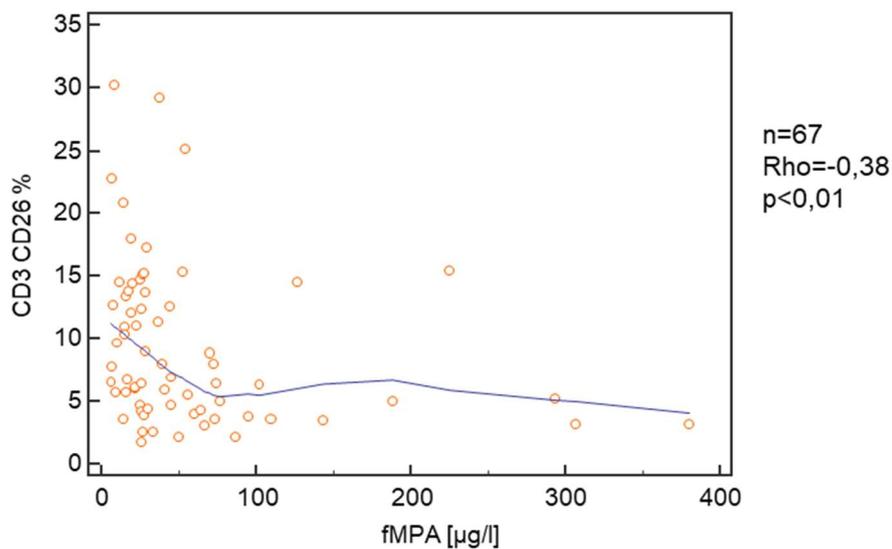


Abb. 17: Expression von CD3+/CD26+ in Abhängigkeit von der fMPA-Konzentration zum Zeitpunkt P4

CD3+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD3-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

fMPA = freie Mycophenolsäure

3.4.2. CD4+/CD26+ %

Zwischen CD4+/CD26+ und fMPA war ebenfalls eine schwache Korrelation nachzuweisen (Rho = -0,37, $p < 0,01$). Auch hier zeigten die restlichen Ergebnisse keine Korrelation mit CD4+/CD26+.

Tab. 13: Korrelation von CD4+/CD26+ % mit der Konzentration der Immunsuppressiva zum Zeitpunkt P4

CD4+/CD26+ %	Probenanzahl	Rho	Signifikanzniveau	95%-Konfidenzintervall für Rho
Tac	69	-0,01	$p=0,92$	-0,25 bis 0,23
MPA	66	-0,21	$p=0,09$	-0,43 bis 0,03
fMPA	67	-0,37	$p=0,002$	-0,56 bis -0,14
MPAG	66	-0,11	$p=0,4$	-0,34 bis 0,14

CD4+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD4-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

Tac = Tacrolimus

MPA = Mycophenolsäure

fMPA = freie Mycophenolsäure

MPAG = Mycophenolat-Glucuronid

Rho = Spearman-Reihenkorrelationskoeffizient

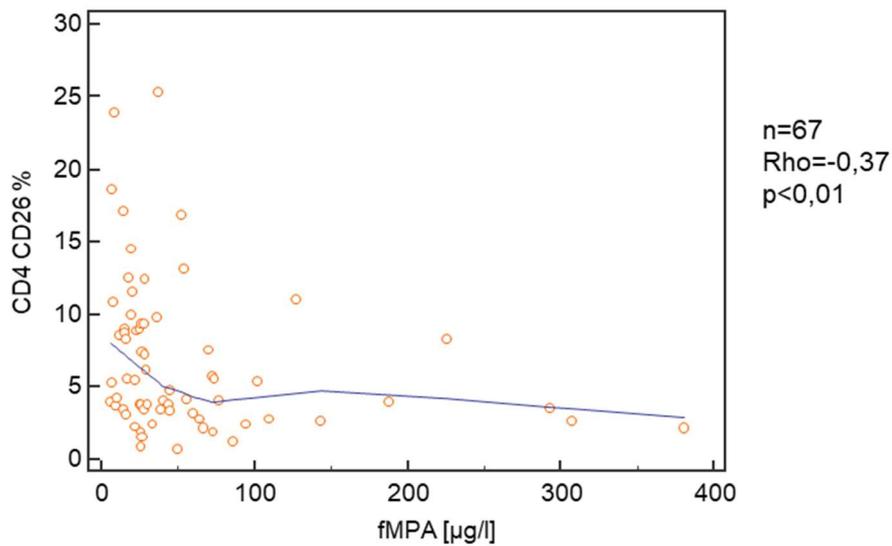


Abb. 18: Expression von CD4+/CD26 in Abhängigkeit von der fMPA-Konzentration zum Zeitpunkt P4

CD4+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD4-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen
fMPA = freie Mycophenolsäure

3.4.3. CD8+/CD26+ %

CD8+/CD26+ korrelierte schwach mit Tacrolimus (rho=-0,26, p=0,03) und fMPA (Rho = -0,35, p<0,01). Es zeigte sich keine Korrelation mit MPA und mit MPAG.

Tab. 14: Korrelation von CD8+/CD26+ % mit der Konzentration der Immunsuppressiva zum Zeitpunkt P4

CD8+/CD26+ %	Probenanzahl	Rho	Signifikanzniveau	95%-Konfidenzintervall für Rho
Tac	69	-0,26	p=0,03	-0,47 bis -0,02
MPA	66	-0,15	p=0,22	-0,38 bis 0,09
fMPA	67	-0,35	p=0,004	-0,54 bis -0,12
MPAG	66	-0,03	p=0,83	-0,27 bis 0,22

CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

Tac = Tacrolimus

MPA = Mycophenolsäure

fMPA = freie Mycophenolsäure

MPAG = Mycophenolat-Glucuronid

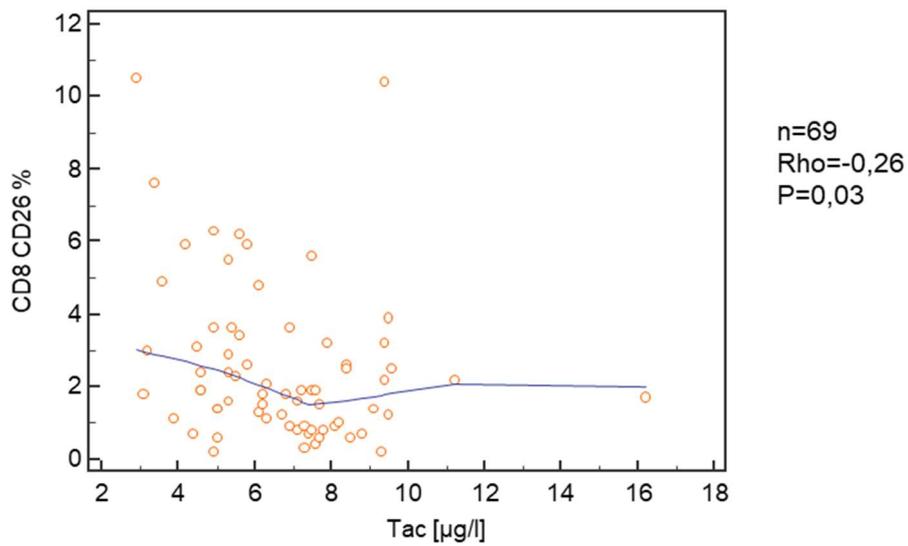


Abb. 19: Expression von CD8+/CD26+ % in Abhängigkeit von der Tacrolimus-Konzentration zum Zeitpunkt P4

CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen
 Tac = Tacrolimus

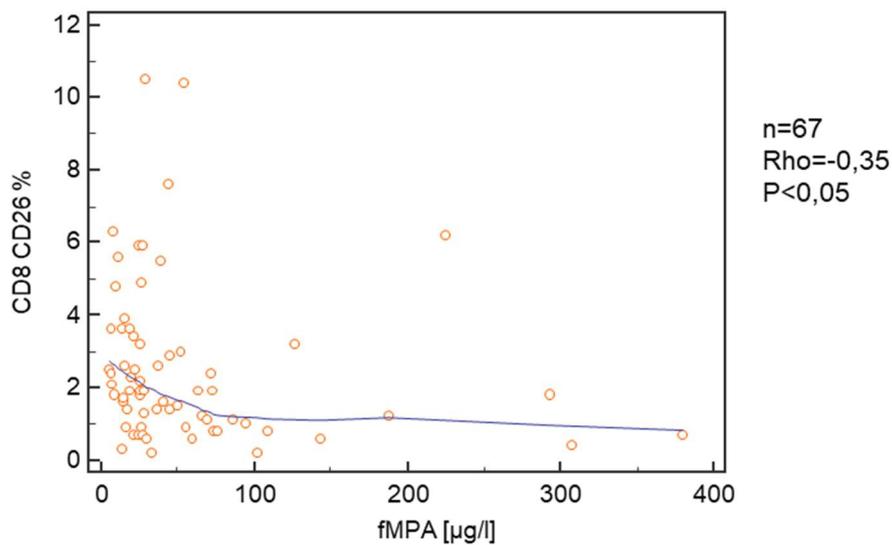


Abb. 20: Expression von CD8+/CD26+ % in Abhängigkeit von der fMPA-Konzentration zum Zeitpunkt P4

CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen
 fMPA = freie Mycophenolsäure

3.4.4. DPPIV-Aktivität U/I

Auch die DPPIV-Aktivität korrelierte schwach mit Tacrolimus (Rho = -0,40, $p < 0,01$) und fMPA (Rho = -0,25, $p < 0,05$). MPA und MPAG korrelierten ebenfalls nicht mit der DPPIV-Aktivität.

Tab. 15: Korrelation der DPPIV-Aktivität mit der Konzentration der Immunsuppressiva zum Zeitpunkt P4

DPPIV-Aktivität U/I	Probenanzahl	Rho	Signifikanzniveau	95%-Konfidenzintervall für Rho
Tac	65	-0,40	$p=0,0009$	-0,59 bis -0,18
MPA	63	-0,22	$p=0,09$	-0,44 bis 0,03
fMPA	64	-0,25	$p=0,0498$	-0,46 bis -0,0005
MPAG	63	-0,32	$p=0,01$	-0,53 bis -0,08

Tac = Tacrolimus

MPA = Mycophenolsäure

fMPA = freie Mycophenolsäure

MPAG = Mycophenolat-Glucuronid

Rho = Spearman-Reihenkorrelationskoeffizient

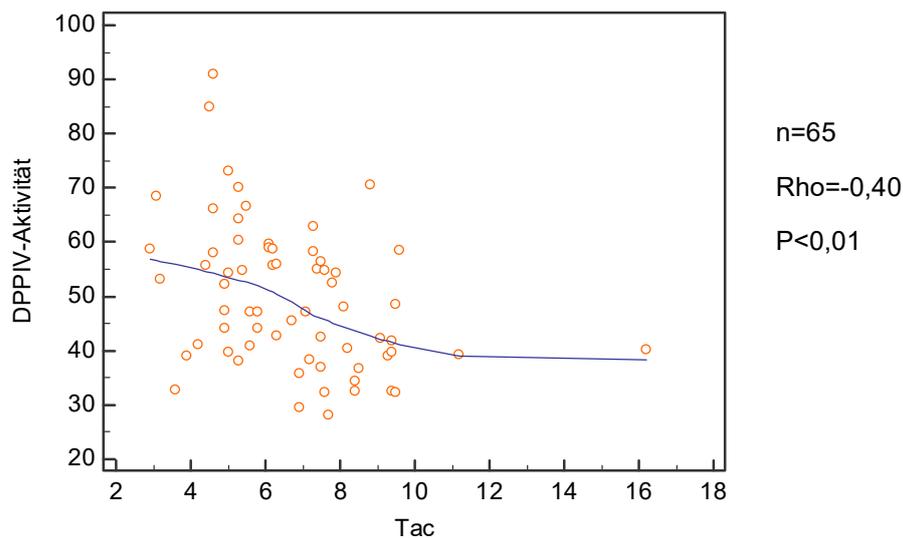


Abb. 21: Expression der DPPIV-Aktivität in Abhängigkeit von der Tacrolimuskonzentration zum Zeitpunkt P4

Tac = Tacrolimus

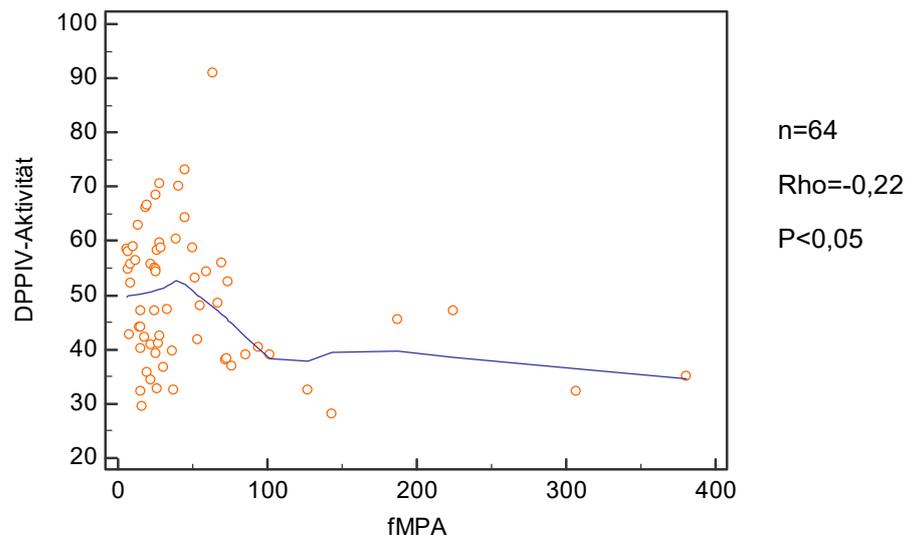


Abb. 22: Expression der DPPiV-Aktivität in Abhängigkeit von der fMPA-Konzentration zum Zeitpunkt P4

fMPA = freie Mycophenolsäure

Da MPAG über die Niere ausgeschieden wird, wurde im Anschluss noch geprüft, ob die DPPiV-Aktivität mit der Kreatinin-Konzentration korreliert. Dies war nicht der Fall (n = 66, Rho = -0,1, p = 0,41, 95%-Konfidenzintervall für Rho = -0,34 bis 0,14).

3.5. Korrelation der DPPiV-Konzentration mit den Biomarkern CD3+/CD26+ %, CD4+/CD26+ % und CD8+/CD26+ % zum Zeitpunkt P4

Die Beziehung zwischen den Biomarkern CD3+/CD26+ %, CD4+/CD26+ % und CD8+/CD26+ % und der DPPiV-Konzentration zum Zeitpunkt P4 wurde mit Hilfe des Spearman-Korrelationskoeffizients untersucht.

Es konnte keine Korrelation festgestellt werden, weshalb auf die Darstellung in einem Punktediagramm verzichtet wurde.

Tab. 16: Korrelation der DPPIV-Aktivität mit den Biomarkern CD3+/CD26+ %, CD4+/CD26+ % und CD8+/CD26+ % zum Zeitpunkt P4

DPPIV	Probenanzahl	Rho	Signifikanzniveau	95%-Konfidenzintervall für Rho
CD3+/CD26+ %	64	-0,14	p=0,33	-0,37 bis 0,11
CD4+/CD26+ %	64	-0,17	p=0,17	-0,4 bis 0,08
CD8+/CD26+ %	64	0,07	p=0,59	-0,18 bis 0,31

CD3+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD3-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen
 CD4+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD4-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen
 CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen
 Rho = Spearman-Reihenkorrelationskoeffizient

3.6. Klinische Ereignisse und Biomarker bzw. Immunsuppression

3.6.1. Gesamtinfektion

3.6.1.1. Assoziation zwischen Biomarkern und Gesamtinfektion im Beobachtungszeitraum nach P4

Die Patienten, die eine Infektion und diejenigen, die keine Infektion 2 bzw. 6 Monate nach der Blutentnahme zum Zeitpunkt P4 hatten, wurden hinsichtlich von Unterschieden in der Expression von CD26 und der Aktivität der DPPIV verglichen.

Es konnten bei der Expression von CD26 auf den T-Zellen und T-Zellsubpopulationen CD4 und CD8 sowie der DPPIV-Aktivität keine signifikanten Unterschiede bei Patienten mit oder ohne Infektion festgestellt werden.

Tab. 17: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität und Gesamtinfektion im 2-Monats-Zeitraum nach dem Zeitpunkt P4

2 Mon	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J
CD3+/CD26+ %	43	27	6,4	8,9	1,7	2,5	30,2	29,2	5,6-10,1	5,0-13,4
CD4+/CD26+ %	43	27	4,3	5,6	0,7	1,6	23,9	25,3	3,7-6,4	3,8-8,3
CD8+/CD26+ %	43	27	1,8	2,2	0,2	0,2	7,6	10,5	1,4-2,3	1,2-2,9
DPPIV-Aktivität U/ml	40	26	52,3	44,9	28,0	32,3	90,9	84,9	42,4-55,7	39,9-54,6

2 Mon = 2-Monats-Zeitraum

CD3+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD3-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD4+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD4-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

N = Patienten ohne Infektion, J = Patienten mit Infektion

Tab. 18: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität und Gesamtinfektion im 6-Monats-Zeitraum nach dem Zeitpunkt P4

6 Mon	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J
CD3+/CD26+ %	32	38	8,4	6,4	1,7	2,5	30,2	29,2	5,7-11,4	5,1-9,6
CD4+/CD26+ %	32	38	5,5	4,5	0,7	1,6	23,9	25,3	3,5-8,9	3,8-6,7
CD8+/CD26+ %	32	38	1,9	1,9	0,2	0,2	7,6	10,5	1,4-3,0	1,2-2,5
DPPIV-Aktivität U/ml	30	36	47,7	47,2	28,0	32,3	90,9	84,9	41,0-56,0	41,2-54,9

6 Mon = 6-Monats-Zeitraum

CD3+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD3-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD4+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD4-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

N = Patienten ohne Infektion, J = Patienten mit Infektion

3.6.1.2. Assoziation zwischen der Konzentration der Immunsuppressiva und Gesamtfektion im Nachbeobachtungszeitraum nach P4

Auch die Immunsuppressivkonzentrationen wurden bei Patienten mit und ohne Infektionen verglichen.

Für MPAG und AcMPAG lagen keine Messwerte vor.

Die Patienten, die im Zeitraum von zwei Monaten nach P4 eine Infektion hatten, wiesen zum Zeitpunkt P4 signifikant höhere Tacrolimus-Spiegel auf ($p=0,0381$).

Tab. 19: Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und Gesamtfektion im 2-Monats-Zeitraum

2 Mon	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J
Tac	43	26	6,2	7,5 _*	3,1	2,9	11,2	16,2	5,3-7,1	6,0-8,3
MPA	43	23	2,7	2,5	0,7	0,5	33,2	14,3	2,0-4,2	2,2-3,1
fMPA	43	23	36,4	28,2	6,8	5,6	293,2	380,2	22,0-53,3	24,8-39,1
%fMPA	43	23	1,2	1,2	0,6	0,6	3,1	2,8	1,0-1,4	1,0-1,4

2 Mon = 2-Monats-Zeitraum

Tac = Tacrolimus

MPA = Mycophenolsäure

fMPA = freie Mycophenolsäure

%fMPA = prozentueller Anteil der freien Mycophenolsäure

N = Patienten ohne Infektion, J = Patienten mit Infektion

* = $p < 0,05$

Beim Zeitraum von sechs Monaten nach P4 war die Tacrolimuskonzentration zum Zeitpunkt P4 bei den Patienten mit Infektion im Trend höher, jedoch war hier das Ergebnis nicht signifikant ($p=0,0573$).

Tab. 20: Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und Gesamtinfektion im 6-Monats-Zeitraum

6 Mon	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J
Tac	32	37	5,9	7,3	3,1	2,9	9,4	16,2	5,0-7,1	6,1-7,6
MPA	31	35	2,7	2,5	0,7	0,5	19,9	33,2	1,5-4,2	2,2-3,2
fMPA	31	36	36,4	28,2	6,8	5,6	22,4	380,2	20,6-53,4	25,3-42,1
%fMPA	31	35	1,3	1,1	0,6	0,6	3,1	2,8	1,1-1,4	0,9-1,4

6 Mon = 6-Monats-Zeitraum

Tac = Tacrolimus

MPA = Mycophenolsäure

fMPA = freie Mycophenolsäure

%fMPA = prozentueller Anteil der freien Mycophenolsäure

N = Patienten ohne Infektion, J = Patienten mit Infektion

3.6.2. Virale Infektionen

3.6.2.1. Assoziation zwischen Biomarkern und viralen Infektionen im Beobachtungszeitraum nach P4

Es wurde geprüft, ob sich Patienten, die 2 bzw. 6 Monate nach dem Zeitpunkt P4 einen viralen Infekt hatten, zum Zeitpunkt P4 hinsichtlich der CD26-Expression auf T-Zellen und der DPPIV-Aktivität unterschieden.

Bei Patienten mit viralen Infektionen im 2- bzw. 6-Monats-Zeitraum zeigte sich kein signifikanter Unterschied bei den Biomarkern zum Zeitpunkt P4.

Tab. 21: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität und virale Infektionen im 2-Monats-Zeitraum nach dem Zeitpunkt P4

2 Mon	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J
CD3+/CD26+ %	52	18	6,6	7,9	1,7	2,5	30,2	29,2	5,8-9,4	3,4-14,1
CD4+/CD26+ %	52	18	4,8	5,5	0,7	1,6	23,9	25,3	3,8-6,6	2,5-10,7
CD8+/CD26+ %	52	18	1,8	2,3	0,2	0,2	7,6	10,5	1,4-2,3	1,1-3,1
DPPIV-Aktivität U/ml	48	18	50,2	43,3	28,0	32,3	90,9	66,5	42,6-55,1	37,3-56,7

2 Mon = 2-Monats-Zeitraum

CD3+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD3-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD4+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD4-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

N = Patienten ohne virale Infektion, J = Patienten mit viraler Infektion

Tab. 22: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität und virale Infektionen im 6-Monats-Zeitraum nach dem Zeitpunkt P4

6 Mon	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J
CD3+/CD26+ %	47	23	6,7	6,9	1,7	2,5	30,2	29,2	5,6-10,1	4,5-13,2
CD4+/CD26+ %	47	23	4,3	5,3	0,7	1,6	23,9	25,3	3,8-7,5	2,9-9,0
CD8+/CD26+ %	47	23	1,8	2,2	0,2	0,2	7,6	10,5	1,4-2,5	1,1-2,6
DPPIV-Aktivität U/ml	44	22	50,2	43,5	28,0	32,3	90,9	66,5	42,2-55,6	39,6-54,5

6 Mon = 6-Monats-Zeitraum

CD3+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD3-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD4+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD4-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

N = Patienten ohne virale Infektion, J = Patienten mit viraler Infektion

3.6.2.2. Assoziation zwischen der Konzentration der Immunsuppressiva und viralen Infektionen im Beobachtungszeitraum nach P4

Auch die Konzentration der Immunsuppressiva zum Zeitpunkt P4 unterschied sich nicht bei Patienten, die im 2-Monats-Zeitraum eine Infektion hatten oder nicht. Lediglich bei AcMPAG war die Konzentration zum Zeitpunkt P4 etwas höher, wenn die Patienten im 2-Monats-Zeitraum nach P4 eine virale Infektion hatten. Dies war mit $p=0,0721$ jedoch nicht signifikant.

Tab. 23: Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und virale Infektionen im 2-Monats-Zeitraum

2 Mon	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J
Tac	52	17	6,3	7,5	3,1	2,9	16,2	9,5	5,3-7,2	5,8-8,4
MPA	50	16	2,5	2,6	0,5	1,9	33,2	14,3	2,0-3,6	2,4-3,7
fMPA	50	17	27,4	28,8	5,6	15,4	293,2	380,2	23,8-46,7	25,8-53,7
%fMPA	50	16	1,2	1,2	0,6	0,6	3,1	2,8	1,1-1,4	0,8-1,4
AcMPAG	35	13	0,2	0,3	0,0	0,1	1,3	0,8	0,1-0,3	0,2-0,5
MPAG	50	16	61,8	70,9	17,1	49,0	204,9	279,5	54,6-79,5	62,6-83,7

2 Mon = 2-Monats-Zeitraum

Tac = Tacrolimus

MPA = Mycophenolsäure

fMPA = freie Mycophenolsäure

%fMPA = prozentueller Anteil der freien Mycophenolsäure

AcMPAG = MPA-Glucuronid

MPAG = Mycophenolat-Glucuronid

N = Patienten ohne virale Infektion, J = Patienten mit viraler Infektion

Dagegen zeigte sich im 6-Monats-Zeitraum bei Tacrolimus, dass die Patienten mit viralen Infekten höhere Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 hatten ($p=0,0592$). Dies war allerdings knapp nicht-signifikant.

Tab. 24: Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und virale Infektionen im 6-Monats-Zeitraum

6 Mon	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J
Tac	47	22	6,2	7,4	3,1	2,9	16,2	11,2	5,3-7,2	6,1-8,2
MPA	45	21	2,1	2,6	0,5	0,8	33,2	14,3	1,9-3,6	2,4-3,7
fMPA	45	22	27,7	28,5	5,6	6,9	293,2	380,2	23,4-47,5	25,2-54,4
%fMPA	45	21	1,3	1,1	0,6	0,6	3,1	2,8	1,1-1,5	0,9-1,4
AcMPAG	33	15	0,2	0,3	0,0	0,1	1,3	0,8	0,1-0,3	0,2-0,4
MPAG	45	21	71,6	66,2	17,1	23,9	204,9	279,5	56,0-87,8	59,3-75,5

6 Mon = 6-Monats-Zeitraum

Tac = Tacrolimus

MPA = Mycophenolsäure

fMPA = freie Mycophenolsäure

%fMPA = prozentueller Anteil der freien Mycophenolsäure

AcMPAG = MPA-Glucuronid

MPAG = Mycophenolat-Glucuronid

N = Patienten ohne virale Infektion, J = Patienten mit viraler Infektion

3.6.3. Transplantatabstoßung/Rejektion

3.6.3.1. Assoziation zwischen Biomarkern und Transplantatabstoßung im Beobachtungszeitraum nach P4

Die Biomarker, die zum Zeitpunkt P4 gemessen wurden, waren nicht mit Transplantatabstoßungen im Beobachtungszeitraum nach P4 assoziiert.

Tab. 25: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 und Transplantatabstoßung im 2-Monats-Zeitraum

2 Mon	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J
CD3+/CD26+ %	65	4	6,9	8,3	1,7	2,5	30,2	17,2	5,9-9,5	-
CD4+/CD26+ %	65	4	5,3	4,5	0,7	2,4	25,3	8,3	3,8-7,4	-
CD8+/CD26+ %	65	4	1,9	2,2	0,2	0,2	10,4	10,5	1,5-2,4	-
DPPIV-Aktivität U/ml	61	4	48,1	39,8	28,0	32,3	90,9	58,7	42,6-54,8	-

2 Mon = 2-Monats-Zeitraum

CD3+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD3-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD4+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD4-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

N = Patienten ohne Transplantatabstoßung, J = Patienten mit Transplantatabstoßung

Tab. 26: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 und Transplantatabstoßung im 6-Monats-Zeitraum

6 Mon	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J
CD3+/CD26+ %	64	5	6,8	9,2	1,7	2,5	30,2	17,2	5,9-9,8	-
CD4+/CD26+ %	64	5	5,1	6,2	0,7	2,4	25,3	8,3	3,8-7,3	-
CD8+/CD26+ %	64	5	1,9	1,5	0,2	0,2	10,4	10,5	1,6-2,4	-
DPPIV-Aktivität U/ml	61	4	48,1	39,8	28,0	32,3	90,9	58,7	42,6-54,8	-

6 Mon = 6-Monats-Zeitraum

CD3+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD3-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD4+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD4-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

N = Patienten ohne Transplantatabstoßung, J = Patienten mit Transplantatabstoßung

3.6.3.2. Assoziation zwischen der Konzentration der Immunsuppressiva und Transplantatabstoßung im Beobachtungszeitraum nach P4

Für MPAG und AcMPAG gab es hier nur unzureichende Daten, weshalb beide nicht in die Auswertung aufgenommen wurden.

Der Vergleich der Immunsuppressivkonzentrationen am Zeitpunkt P4 zwischen Patienten ohne bzw. mit Abstoßungsreaktion ergab keinen signifikanten Unterschied, weder im 2-Monats- noch im 6-Monats-Zeitraum nach P4.

Tab. 27: Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und Transplantatabstoßung im 2-Monats-Zeitraum

2 Mon	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J
Tac	65	4	6,7	6,3	3,1	2,9	16,2	9,5	5,8-7,3	-
MPA	62	4	2,6	2,8	0,5	2,4	33,2	14,3	2,1-3,3	-
fMPA	62	4	27,9	30,8	5,6	15,6	293,2	307,1	25,2-43,8	-
%fMPA	62	4	1,2	1,1	0,6	0,6	3,1	2,2	1,1-1,4	-

2 Mon = 2-Monats-Zeitraum

Tac = Tacrolimus

MPA = Mycophenolsäure

fMPA = freie Mycophenolsäure

%fMPA = prozentueller Anteil der freien Mycophenolsäure

N = Patienten ohne Transplantatabstoßung, J = Patienten mit Transplantatabstoßung

Tab. 28: Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und Transplantatabstoßung im 6-Monats-Zeitraum

6 Mon	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J
Tac	64	5	6,5	7,6	3,1	2,9	16,2	9,5	5,7-7,3	-
MPA	62	4	2,6	2,8	0,5	2,4	33,2	14,3	2,1-3,3	-
fMPA	62	4	27,9	30,8	5,6	15,6	293,2	307,1	25,2-43,8	-
%fMPA	62	4	1,2	1,1	0,6	0,6	3,1	2,2	1,1-1,4	-

6 Mon = 6-Monats-Zeitraum

Tac = Tacrolimus

MPA = Mycophenolsäure

fMPA = freie Mycophenolsäure

%fMPA = prozentueller Anteil der freien Mycophenolsäure

N = Patienten ohne Transplantatabstoßung, J = Patienten mit Transplantatabstoßung

3.6.4. Leukopenie

3.6.4.1. Assoziation zwischen Biomarkern und Leukopenie im Beobachtungszeitraum nach P4

Die Expression von CD4+/CD26+ zum Zeitpunkt P4 war bei den Patienten tendenziell geringer, die im 2-Monats-Zeitraum nach P4 eine Leukopenie hatten (p=0,0759). Die DPPIV-Aktivität war bei diesen Patienten sogar signifikant (p=0,0004) niedriger.

Für die restlichen Biomarker waren die Ergebnisse nicht signifikant.

Tab. 29: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 und Leukopenie im 2-Monats-Zeitraum

2 Mon	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J
CD3+/CD26+ %	59	11	7,9	5,0	1,7	3,0	30,2	29,2	6,0-11,0	3,3-10,0
CD4+/CD26+ %	59	11	5,5	2,7	0,7	1,9	23,9	25,3	4,0-7,5	2,3-7,7
CD8+/CD26+ %	59	11	1,9	1,5	0,2	0,4	10,5	3,9	1,6-2,4	0,8-2,7
DPPIV-Aktivität U/ml	56	10	52,8	37,7** *	29,4	28,0	90,9	48,5	45,9-55,8	32,3-40,6

2 Mon = 2-Monats-Zeitraum

CD3+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD3-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD4+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD4-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

N = Patienten ohne Leukopenie, J = Patienten mit aufgetretener Leukopenie

*** = p<0,001

Im 6-Monats-Zeitraum war die Expression von CD3+/CD26+ (p=0,0373) und CD4+/CD26+ (p=0,00285) signifikant bei den Patienten niedriger, die eine Leukopenie entwickelt hatten.

Auch die DPPIV-Aktivität war signifikant geringer (p=0,002).

Tab. 30: CD26-positive T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 und Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum

6 Mon	Probenanzahl I		Median		Minimum		Maximum		95%- Konfidenz- intervall	
	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J
CD3+/CD26 + %	55	15	8,8	5,2*	2,1	1,7	30, 2	29, 2	6,1- 11,6	3,5- 6,8
CD4+/CD26 + %	55	15	5,6	3,6**	0,7	0,9	23, 9	25, 3	4,0- 8,4	2,3- 5,4
CD8+/CD26 + %	55	15	1,9	1,8	0,2	0,4	10, 5	3,9	1,5- 2,5	0,9- 2,5
DPPIV- Aktivität U/ml	53	13	52, 2	39,3* *	29, 4	28, 0	90, 9	68, 5	44,2 - 55,7	32,5 - 50,3

6 Mon = 6-Monats-Zeitraum

CD3+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD3-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD4+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD4-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

N = Patienten ohne Leukopenie, J = Patienten mit aufgetretener Leukopenie

* = $p < 0,05$

** = $p < 0,01$

Mit Hilfe der ROC-Analyse wurden nun die signifikanten Ergebnisse genauer überprüft.

Die Biomarker CD3+/CD26+, CD4+/CD26+ und CD8+/CD26+, die zum Zeitpunkt P4 gemessen wurden, waren nicht mit dem Auftreten von Leukopenie im Zeitraum von zwei Monaten nach P4 assoziiert.

Die DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 zeigte mit $p < 0,001$ eine gute Diskriminierung bei den Patienten mit und ohne Leukopenie im 2-Monats-Zeitraum nach P4. Bei einem Cut-off von $\leq 40,9$ ergab sich für die Vorhersage bezüglich des Auftretens einer Leukopenie innerhalb von 2 Monaten nach der Blutentnahme eine Sensitivität von 90% und eine Spezifität von 77% (AUC = 0,855). Der positiv prädiktive Wert lag bei 41%, der negativ prädiktive Wert bei 98%.

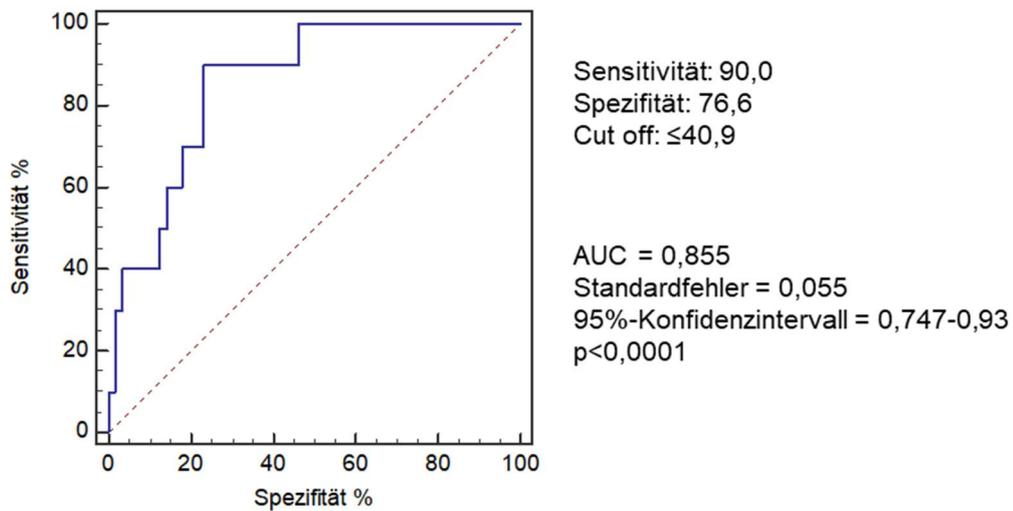


Abb. 23: ROC-Kurve der DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 2-Monats-Zeitraum

Im 6-Monats-Zeitraum ergab die ROC-Analyse mit Ausnahme von CD8+/CD26+ eine gute Assoziation der Biomarker zum Zeitpunkt P4 mit dem Auftreten einer Leukopenie. Die Zusammenfassung dieser Ergebnisse findet sich in Tabelle 31.

Tab. 31: ROC-Analyse der CD26-positiven T-Zellen sowie DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 und Auftreten von Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum

6 Mon	AUC	95%-Konfidenzintervall	p	Cut off	Sensitivität	Spezifität
CD3+/CD26+ %	0,68	0,55-0,78	0,03	≤6,3	80%	56%
CD4+/CD26+ %	0,69	0,56-0,79	0,02	≤2,7	47%	90%
DPPIV-Aktivität U/l	0,71	0,58-0,81	0,02	≤40,9	69%	75%

6 Mon = 6-Monates-Zeitraum

CD3+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD3-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD4+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD4-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

CD8+/CD26+ % = Prozentualer Anteil der CD8-T-Zellen, die den Biomarker CD26 tragen

ROC = Receiver Operating Characteristics

AUC = Fläche unter der ROC-Kurve

p = Signifikanzniveau

Bei CD3+/CD26+ ergab sich bei einem Cut-off von 6,3 (Sensitivität 80% / Spezifität 56%) ein positiv prädiktiver Wert von 33% und ein negativ prädiktiver Wert von 91%.

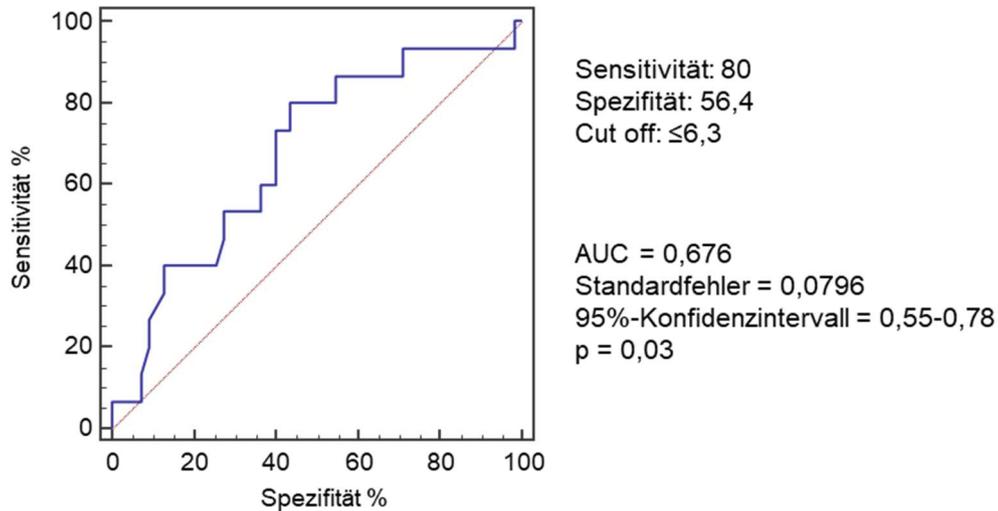


Abb. 24: ROC-Kurve von CD3+/CD26+% zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum

Der positiv prädiktive Wert für CD4+/CD26+% zum Zeitpunkt P4 lag bei einem ermittelten optimalen Cut-off von 2,7 bei 54% und der negativ prädiktive Wert bei 86%.

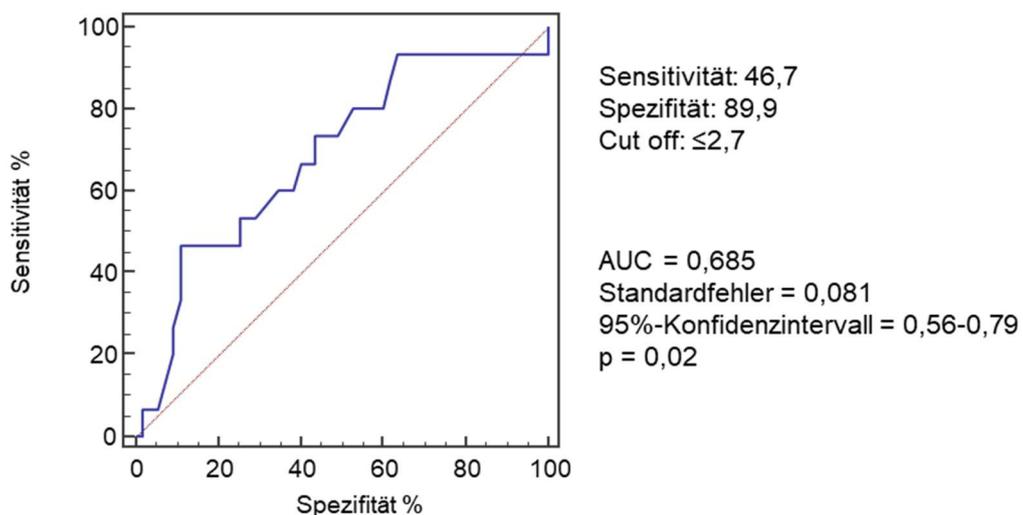


Abb. 25: ROC-Kurve von CD4+/CD26+% zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum

Für die DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 ergab sich ein positiver prädiktiver Wert von 41% und ein negativer prädiktiver Wert von 91% für das Auftreten einer Leukopenie in den nachfolgenden sechs Monaten bei einem Cut off der DPPIV-Konzentration von 40,9 µg/l.

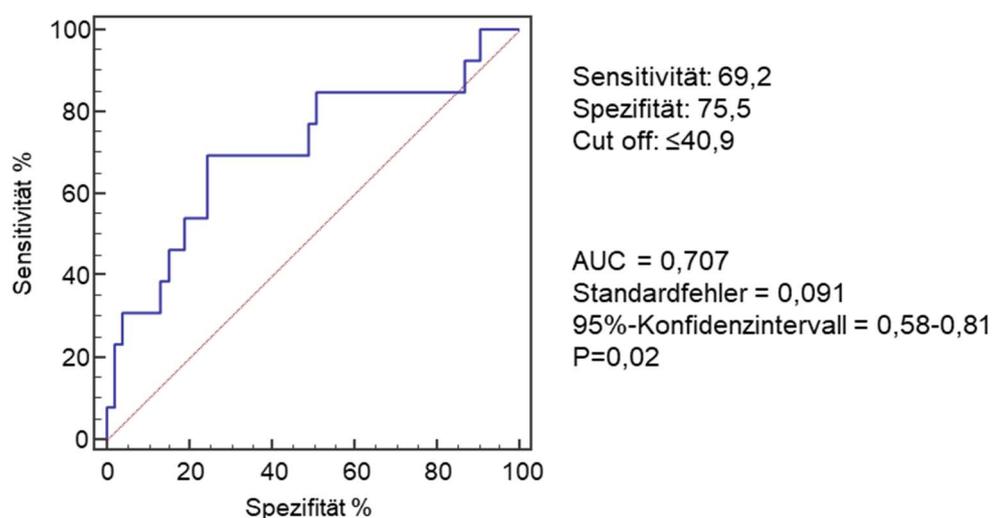


Abb. 26: ROC-Kurve der DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum nach P4

3.6.4.2. Assoziation zwischen der Konzentration der Immunsuppressiva und Leukopenie im Beobachtungszeitraum nach P4

Die Patienten, die im Beobachtungszeitraum von 2 Monaten nach P4 eine Leukopenie hatten, wiesen zum Zeitpunkt P4 signifikant höhere Werte für Tacrolimus ($p=0,0021$), %fMPA ($p=0,0248$) und MPAG ($p=0,0166$) auf. Auch bei fMPA ($p=0,0609$) und AcMPAG ($p=0,0827$) war hier ein Trend vorhanden.

Tab. 32: Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und Leukopenie im 2-Monats-Zeitraum

2 Mon	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J
Tac	58	11	6,2	7,7**	2,9	5,6	16,2	11,2	5,3-6,9	7,4-9,5
MPA	56	10	2,4	3,5	0,5	1,4	33,2	14,3	2,0-3,2	2,4-5,3
fMPA	57	10	27,7	69,7	5,6	15,6	380,2	307,1	24,8-39,7	23,5-120
%fMPA	56	10	1,1	1,5*	0,5	0,5	3,1	2,8	1,1-1,3	1,1-2,5
AcMPAG	40	8	0,2	0,5	0,0	0,1	1,3	0,8	0,1-0,3	0,2-0,8
MPAG	56	10	63,7	93,2*	17,1	56,9	204,9	279,5	55,7-75,2	61,2-176

2 Mon = 2-Monats-Zeitraum

Tac = Tacrolimus

MPA = Mycophenolsäure

fMPA = freie Mycophenolsäure

%fMPA = prozentueller Anteil der freien Mycophenolsäure

AcMPAG = MPA-Glucuronid

MPAG = Mycophenolat-Glucuronid

N = Patienten ohne Leukopenie, J = Patienten mit aufgetretener Leukopenie

* = $P < 0,05$

** = $P < 0,01$

Bei Patienten, die im 6-Monats-Zeitraum eine Leukopenie entwickelten, waren zum Zeitpunkt P4 bei Tacrolimus ($p=0,0215$), MPA ($p=0,0171$), fMPA ($p=0,0145$) und AcMPAG ($p=0,0348$) höhere Konzentrationen gemessen worden. Bei MPAG waren tendenziell höhere Konzentrationen nachweisbar, dies war allerdings mit $p=0,0964$ nicht signifikant. %fMPA zum Zeitpunkt P4 war für die Vorhersage einer Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum nicht aussagekräftig.

Tab. 33: Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum

6 Mon	Probenanzahl		Median		Minimum		Maximum		95%-Konfidenzintervall	
	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J
Tac	54	15	6,2	7,7*	2,9	3,1	16,2	11,2	5,3-7,0	6,9-8,3
MPA	52	14	2,3	4,1*	0,5	1,4	19,9	33,2	2,0-2,9	2,6-5,1
fMPA	53	14	27,0	69,7*	5,6	15,6	380,2	307,1	22,1-36,7	25,5-99,3
%fMPA	52	14	1,1	1,5	0,6	0,6	3,1	2,8	1,1-1,3	0,9-2,2
AcMPAG	38	10	0,2	0,5*	0,0	0,1	1,3	1,0	0,1-0,3	0,2-0,8
MPAG	52	14	63,7	75,7	17,1	23,9	204,9	279,5	56,3-76,0	59,0-145

6 Mon = 6-Monats-Zeitraum

Tac = Tacrolimus

MPA = Mycophenolsäure

fMPA = freie Mycophenolsäure

%fMPA = prozentueller Anteil der freien Mycophenolsäure

AcMPAG = MPA-Glucuronid

MPAG = Mycophenolat-Glucuronid

N = Patienten ohne Leukopenie, J = Patienten mit aufgetretener Leukopenie

* = $P < 0,05$

Auch bei den Immunsuppressiva wurden nun mittels der ROC-Analyse die signifikanten Ergebnisse genauer betrachtet.

Die Tacrolimus- und MPAG-Konzentrationen sowie %fMPA zum Zeitpunkt P4 waren im 2-Monats-Zeitraum signifikant mit dem Auftreten von Leukopenien assoziiert.

Tab. 34: ROC-Analyse der Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und Auftreten von Leukopenie im 2-Monats-Zeitraum

2 Mon	AUC	95%-Konfidenzintervall	p	Cut off	Sensitivität	Spezifität
Tac	0,79	0,68-0,88	<0,001	>7,1	91%	67%
%fMPA	0,72	0,6-0,83	0,03	>1,39	80%	75%
MPAG	0,74	0,62-0,84	0,005	>105,4	50%	93%

2 Mon = 2-Monats-Zeitraum

Tac = Tacrolimus

%fMPA = prozentueller Anteil der freien Mycophenolsäure

MPAG = Mycophenolat-Glucuronid

ROC = Receiver Operating Characteristics

AUC = Fläche unter der ROC-Kurve

p = Signifikanzniveau

Der positiv prädiktive Wert für Tacrolimus lag für eine Konzentration von >7,1 ng/ml bei 35%. Der negativ prädiktive Wert lag bei 98%.

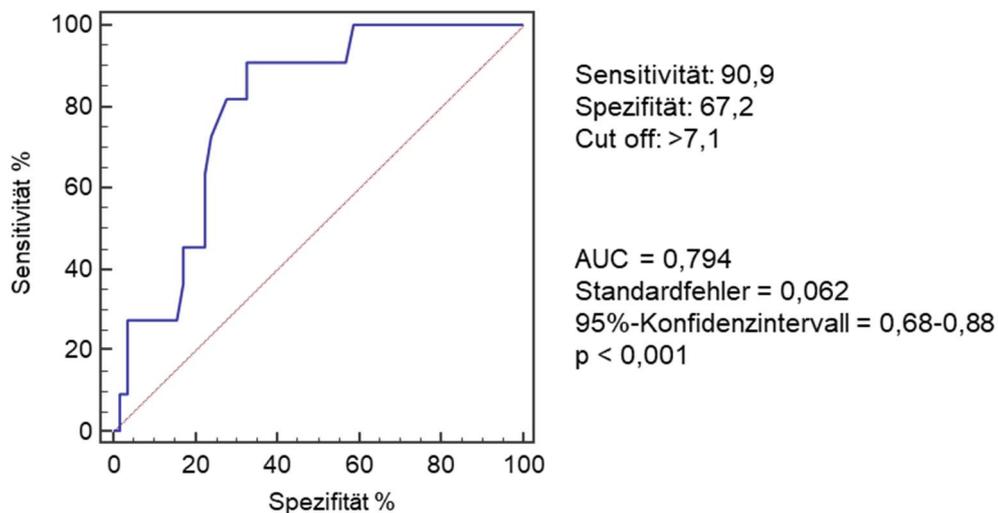


Abb. 27: ROC-Kurve der Tacrolimuskonzentration zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 2-Monats-Zeitraum

Für %fMPA konnte bei einem Cut-Off von 1,4 (Sensitivität 80% / Spezifität 75%) ein positiv prädiktiver Wert von 36% und ein negativ prädiktiver Wert von 96% für das Auftreten von Leukopenien im 2-Monats-Zeitraum ermittelt werden.

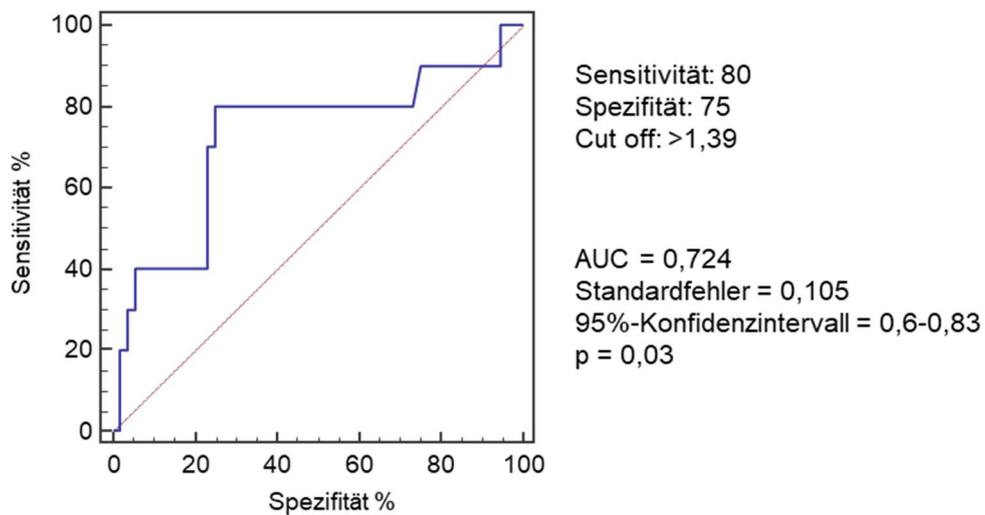


Abb. 28: ROC-Kurve des prozentualen Anteils der fMPA (%fMPA) zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 2-Monats-Zeitraum

Bei MPAG lag bei einer Konzentration von 105 mg/l zum Zeitpunkt P4 der positiv prädiktive Wert für das Auftreten von Leukopenien bei 56%. Der negativ prädiktive Wert lag bei 91%.

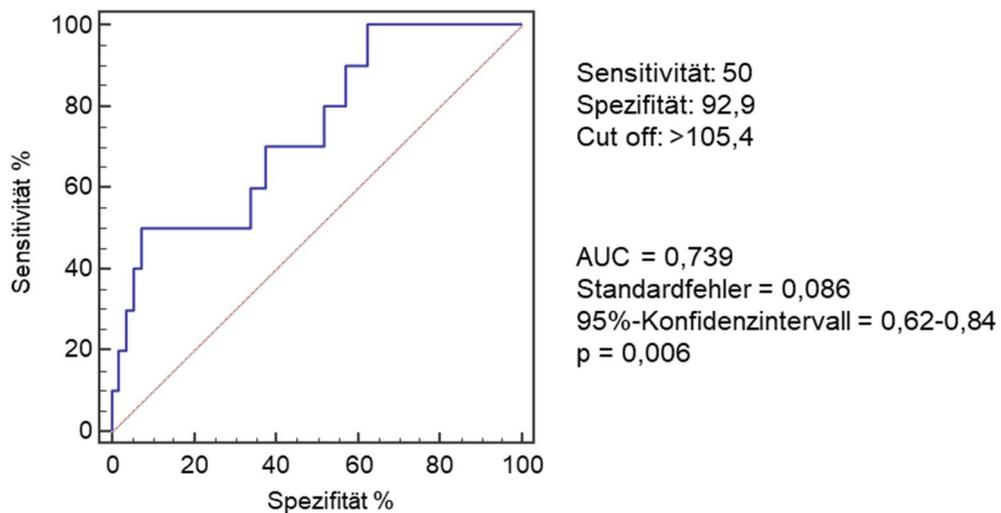


Abb. 29: ROC-Kurve der MPAG-Konzentration zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 2-Monats-Zeitraum

Im 6-Monats-Zeitraum waren die Konzentrationen von Tacrolimus, MPA, fMPA und AcMPAG zum Zeitpunkt P4 signifikant mit Leukopenie assoziiert.

Tab. 35: ROC-Analyse der Immunsuppressiva-Konzentrationen zum Zeitpunkt P4 und Auftreten von Leukopenien im 6-Monats-Zeitraum

6 Mon	AUC	95%-Konfidenzintervall	p	Cut off	Sensitivität	Spezifität
Tac	0,7	0,57-0,8	0,01	>7,1	73%	67%
MPA	0,71	0,58-0,81	0,003	>2,33	93%	52%
fMPA	0,71	0,6-0,82	0,006	>63,4	57%	83%
AcMPAG	0,71	0,57-0,84	0,02	>0,3	60%	82%

6 Mon = 6-Monats-Zeitraum

Tac = Tacrolimus

MPA = Mycophenolsäure

fMPA = freie Mycophenolsäure

AcMPAG = MPA-Glucuronid

ROC = Receiver Operating Characteristics

AUC = Fläche unter der ROC-Kurve

p = Signifikanzniveau

Für Tacrolimus zum Zeitpunkt P4 konnte im 6-Monats-Zeitraum bei einem Cut-Off von 7,1 ng/ml (Sensitivität 73,3% / Spezifität 66,7%) ein positiv prädiktiver Wert von 38% und ein negativ prädiktiver Wert von 90% ermittelt werden.

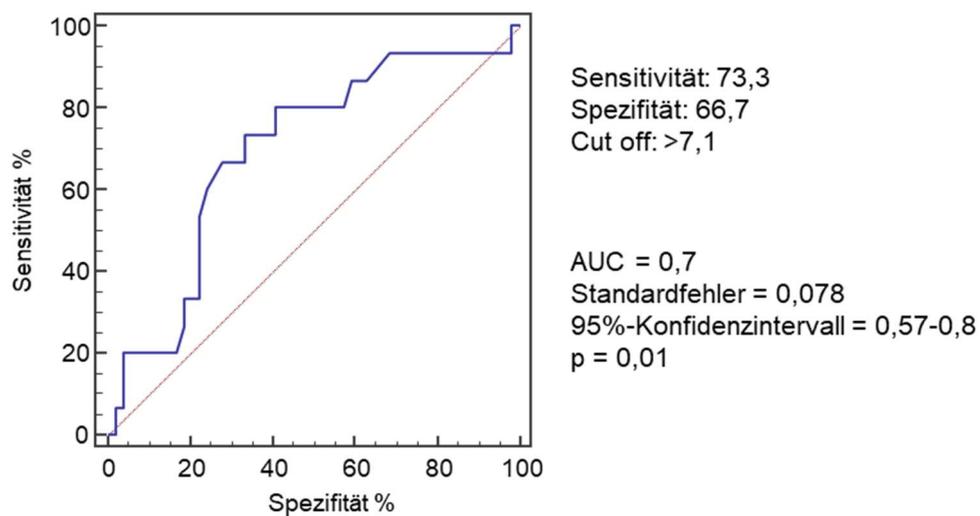


Abb. 30: ROC-Kurve der Tacrolimuskonzentration zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum

Für MPA zum Zeitpunkt P4 lag bei einer Konzentration von 2,3 mg/l ein positiv prädiktiver Wert von 34% und ein negativ prädiktiver von 96% für das Auftreten von Leukopenien im 6-Monats-Zeitraum vor.

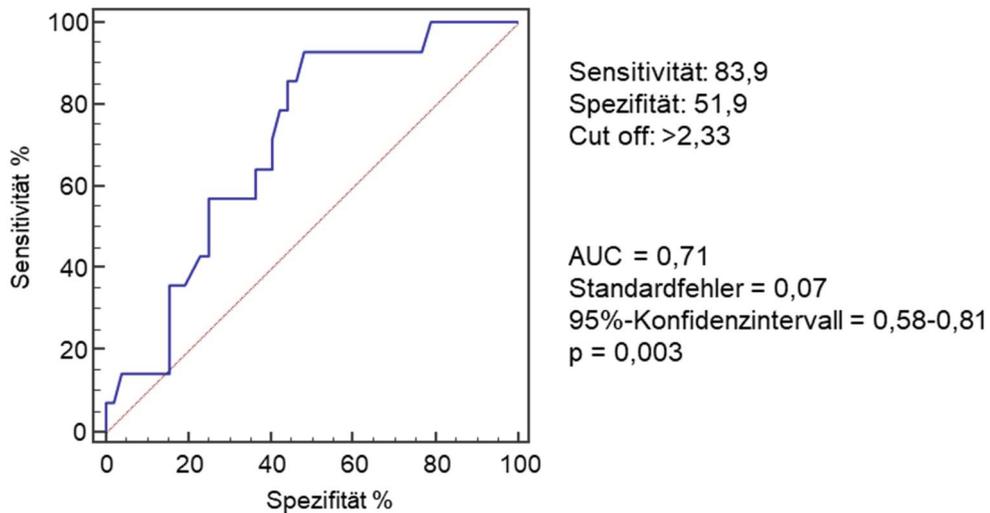


Abb. 31: ROC-Kurve der MPA-Konzentration zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum

Der positiv prädiktive Wert für fMPA zum Zeitpunkt P4 war bei einer Konzentration von 63 µg/l bei 47% und der negativ prädiktive Wert bei 88% hinsichtlich des Auftretens von Leukopenien im 6-Monats-Zeitraum.

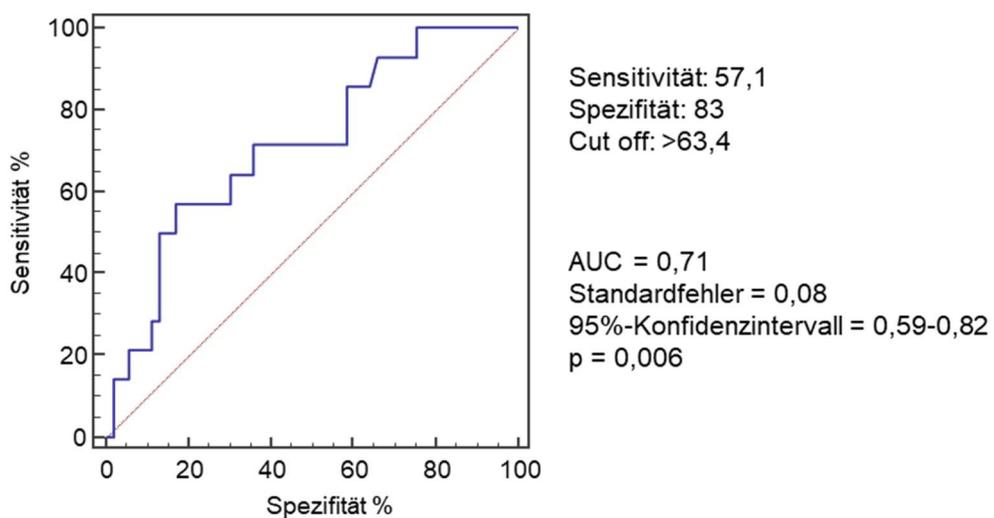


Abb. 32: ROC-Kurve der fMPA-Konzentration zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum

Für eine AcMPAG-Konzentration von 0,3 zum Zeitpunkt P4 lag der positiv prädiktive Wert für das Auftreten von Leukopenien im 6-Monats-Zeitraum bei 46,2%. Der negativ prädiktive Wert lag bei 89%.

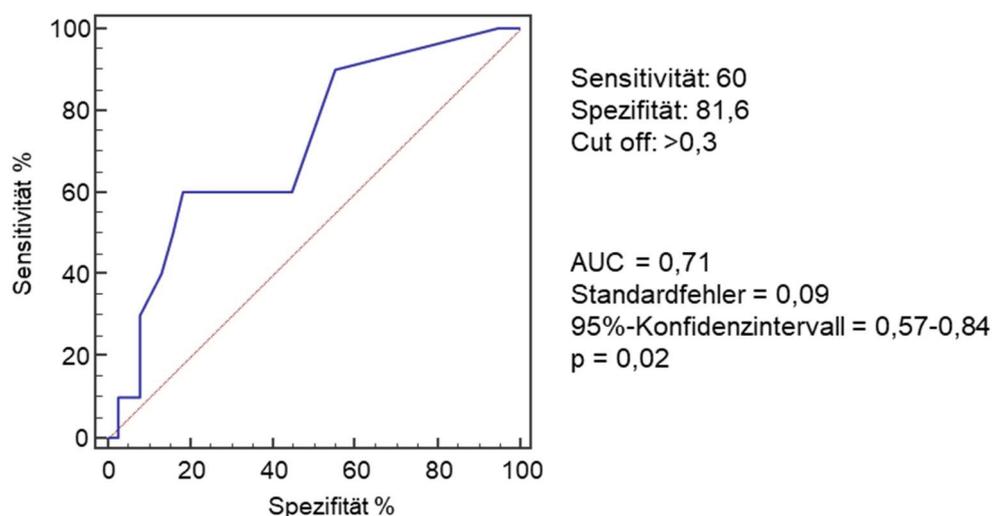


Abb. 33: ROC-Kurve der AcMPAG-Konzentration zum Zeitpunkt P4 bei aufgetretener bzw. nicht aufgetretener Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum

3.7. Kombination der Immunsuppressivkonzentrationen und der Biomarker zur Vorhersage von Leukopenien

CD4+/CD26+, DPPIV-Aktivität, Tacrolimus- und MPA-Konzentration zum Zeitpunkt P4 wurden als Parameter für die Vorhersage einer Leukopenie genauer untersucht.

Dafür wurden die entsprechenden Cut offs aus der ROC-Kurven-Analyse verwendet:

- CD4+/CD26+ $\leq 2,7 \%$
- DPPIV-Aktivität $\leq 40,9 \text{ U/ml}$
- MPA-Konzentration $> 2,33 \text{ mg/l}$
- Tacrolimus-Konzentration $> 7,1 \text{ } \mu\text{g/l}$

Unter- bzw. oberhalb eines dieser oben genannten Cut offs lagen die Parameter bei 26 Patienten. Von diesen 26 Patienten hatte ein Patient eine Leukopenie im

2-Monats-Zeitraum. Im 6-Monats-Zeitraum hatten von den 26 Patienten drei eine Leukopenie.

Bei 18 Patienten lagen zwei Parameter unter- bzw. oberhalb der Cut offs. Im 2-Monats-Zeitraum hatte ein Patient eine Leukopenie. Im 6-Monats-Zeitraum lag bei drei Patienten eine Leukopenie vor.

Zehn Patienten lagen bei drei Parametern unter- bzw. oberhalb des Cut offs. Sowohl im 2-Monats- als auch im 6-Monats-Zeitraum hatten sieben dieser zehn Patienten eine Leukopenie.

Bei zwei Patienten lagen alle Parameter unter- bzw. oberhalb des Cut offs. Beide Patienten hatten sowohl im 2-Monats- als auch im 6-Monats-Zeitraum eine Leukopenie.

Tab. 36: Zusammenstellung der Parameter für die Vorhersage einer Leukopenie

Parameter- anzahl #	2-Monats-Zeitraum			6-Monats-Zeitraum		
	Pat	L(+)	%	Pat	L(+)	%
1	26	1	3,85 %	26	3	11,5 %
2	18	1	5,56 %	18	3	16,7 %
3	10	7	70 %	10	7	70 %
4	2	2	100 %	2	2	100 %

Pat = Patienten mit erfüllten Parametern

L(+) = Patienten, die Parameter erfüllten und Leukopenie hatten

% = Anteil der Leukopenie-Patienten von der Gesamtzahl, die die Parameter erfüllten

= Parameter:

CD4+/CD26+ \leq 2,7

DPPIV \leq 40,9

MPA >2,33

Tac >7,1

Lagen die Werte eines Patienten bei allen 4 Parametern unter oder über den entsprechenden Cut offs, so war die Wahrscheinlichkeit, dass der Patient zur Leukopenie-Gruppe gehörte, bei 100%.

Im 2-Monats-Zeitraum lag die Sensitivität für > 2 Parameter-Unter- bzw. Überschreitungen bei 82% und die Spezifität bei 95%. Hier betrug der positiv prädiktive Wert 75% und der negativ prädiktive Wert 97%.

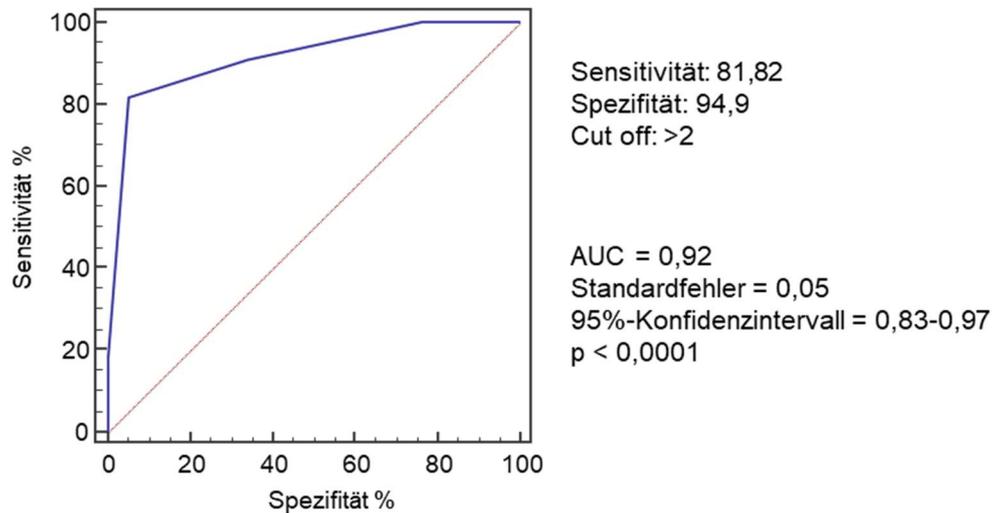


Abb. 34: ROC-Kurve für das Auftreten einer Leukopenie im 2-Monats-Zeitraum bei 2 Parametern unter bzw. über dem Cut off

Im 6-Monats-Zeitraum ergab sich für die Unter- oder Überschreitung des Cut offs bei >2 Parametern ein positiver prädiktiver Wert von 75% und ein negativer prädiktiver Wert von 90%.

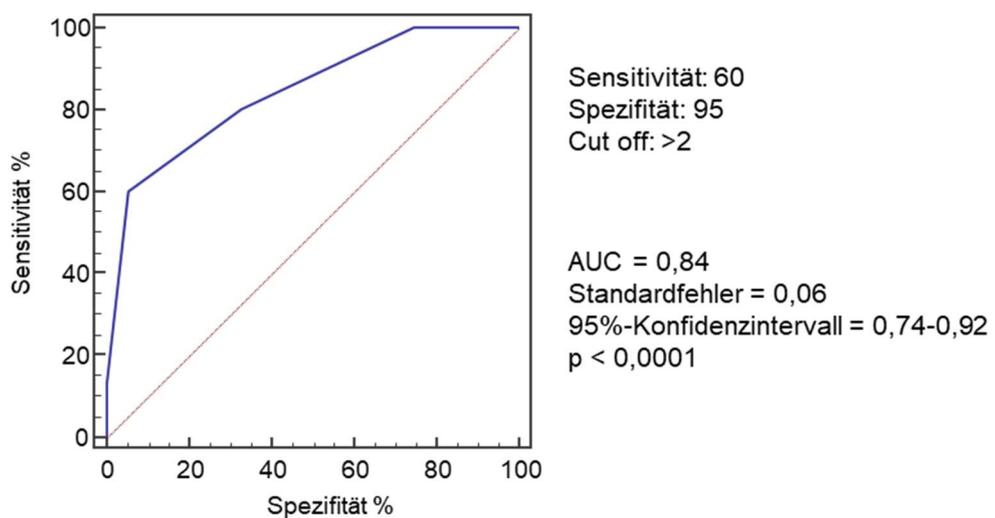


Abb. 35: ROC-Kurve für das Auftreten einer Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum bei 2 Parametern unter bzw. über dem Cut off

Diese Ergebnisse zeigen, dass sich mit der Messung von CD4+/CD26+ und der DPPIV-Aktivität sowie der Konzentration von MPA und Tacrolimus mit einer hohen Wahrscheinlichkeit das Auftreten bzw. noch besser das Ausbleiben einer Leukopenie in der späteren Phase (>2 Monate) nach einer Nierentransplantation vorhersagen lässt.

4. DISKUSSION

4.1. CD26/DPPIV als potentieller Biomarker zur Steuerung der Immunsuppression

Dass ein Zusammenhang zwischen CD26/DPPIV und dem Immunsystem besteht, ist inzwischen belegt [129, 130].

CD26 gilt als kostimulatorisches Molekül für die T-Zell-Aktivierung und wird auf aktivierten T-Zellen vermehrt exprimiert [131]. Eine Hemmung der DPPIV-Aktivität oder die Ausschaltung von CD26 zeigte, wie weiter unten ausgeführt, immunsuppressive Wirkungen im Tiermodell.

Zusätzlich ist CD26/DPPIV noch in den Kollagenmetabolismus und den Glukose-Stoffwechsel involviert [132].

Die Hemmung der DPPIV-Aktivität im Blut ist heute ein etabliertes Therapieprinzip bei Diabetes mellitus. DPPIV-Inhibitoren verhindern den Abbau der Inkretine GLP-1 und GIP, wodurch deren Wirkung verlängert wird. Die Substanzen begünstigen die Sekretion von Insulin und hemmen die Freisetzung von Glukagon [133, 134]. Sie scheinen zusätzlich eine nephroprotektive Wirkung zu haben. Zeichen der diabetischen Nephropathie wie Proteinurie oder Mikroalbuminämie waren in Studien signifikant seltener nachweisbar [135].

Es gab Hinweise darauf, dass Patienten, die mit DPPIV-Inhibitoren behandelt werden, ein höheres Infektionsrisiko haben [136, 137]. Dies wurde durch Yang et al. in einer Meta-Analyse nicht bestätigt [138].

4.1.1. Nierentransplantation

Die Studienlage zu CD26 bei der Nierentransplantation ist dürftig.

Korom et al. haben 56 Probanden nach Nierentransplantation untersucht. Es wurden verschiedene Parameter, u.a. die Expression von CD4, CD8 und CD26 auf Lymphozyten und die DPPIV-Aktivität, im Blut gemessen. Die Messungen erfolgten zum einen vor der Transplantation bzw. Induktionstherapie und zum

anderen an Tag 1, Tag 7, Tag 14 und Tag 21 nach der Transplantation. Weitere Messungen erfolgten nach 2, 4, 6, 12, 18 und 21 Monaten [139].

Die Expression von CD26 auf den Lymphozyten war bis 18 Monate nach der Transplantation erniedrigt und die Aktivität von DPPIV bis 12 Monate nach der Transplantation erniedrigt. Auch die Anzahl der CD4- (bis 6 Monate) und CD8-Zellen (bis Tag 7) waren erniedrigt.

Nakao et al. beschäftigten sich mit der Zeit vor der Transplantation, d.h. mit den Serumkonzentrationen von löslichem CD26 bei Hämodialyse-Patienten. Sie fanden heraus, dass bei Patienten, die mit einer Hämodialyse behandelt wurden, ein niedrigerer sCD26-Spiegel vorlag als bei der Kontrollgruppe mit Niereninsuffizienz, aber ohne Hämodialysetherapie. Auch bei Niereninsuffizienz scheint eine niedrigere sCD26-Konzentration vorzuliegen. Diese Ergebnisse waren jedoch nicht signifikant.

Sie können allerdings als Hinweis interpretiert werden, dass es bei einer eingeschränkten Nierenfunktion nicht zu einem Anstieg von sCD26 im Blut kommt. Es bestand eine Korrelation mit Serumalbumin und Hämatokrit [140].

4.1.2. Lungentransplantation

Bei der Lungentransplantation gibt es mehr Studien, die sich mit CD26 befassen. In vielen der Studien wurde die Auswirkung einer Hemmung von CD26 auf das Transplantat oder die Abstoßungsrate beobachtet.

Jung et al. untersuchten männliche Ratten, deren linker Lungenflügel transplantiert wurde [141]. Die DPPIV-Funktion wurde irreversibel gehemmt und anschließend der Spiegel von DPPIV im Serum bestimmt. Zusätzlich wurde die Transplantatfunktion gemessen, indem man den pO₂ in der Blutgasanalyse bestimmte und die Lungen histologisch auf eine Abstoßung untersuchte.

Ratten, bei denen DPPIV gehemmt wurde, hatten bessere Sauerstoff-Werte und wiesen eine geringere Abstoßungsrate auf.

Riemer et al. [142] konnten dies in ihrer Studie bestätigen. Durch die Hemmung von CD26 bei lungentransplantierten Ratten wurde die Abstoßungsrate signifikant gesenkt.

Im Jahr 2009 wurde von der Gruppe um Jungraithmayr ebenfalls bei Ratten mit Lungentransplantation die Auswirkung des DPPIV-Inhibitors AB192 beobachtet [143]. Die Tiere wurden in zwei Gruppen aufgeteilt, denen Lungen implantiert wurden, die entweder vor der Transplantation mit dem DPPIV-Hemmer gespült wurden oder nicht. Die Therapie erfolgte mit subkutan verabreichtem Ciclosporin A und endete am fünften postoperativen Tag. Die Ratten, deren Transplantate mit AB192 gespült worden waren, hatten höhere pO₂-Werte. Histologisch war hier seltener eine Abstoßungsreaktion zu sehen. Eingeschränkt wurde die Studie durch die sehr kleine Fallzahl mit nur 10 Tieren.

Mit lungentransplantierten Mäusen befassten sich Yamada et al. im Jahr 2016 [144]. Ein Teil der Mäuse, d.h. die Kontrollgruppe, wurde nicht behandelt, ein Teil der Mäuse waren sogenannte CD26/DPPIV-knockout-Mäuse, und ein dritter Teil der Mäuse wurde mit dem CD26-Hemmer Vildagliptin behandelt.

Die behandelten und die Knockout-Mäuse wiesen histologisch deutlich weniger Abstoßungszeichen auf. Außerdem waren weniger Makrophagen, T- und B-Zellen im Lungenpräparat nachweisbar. Die Oxygenierung war signifikant besser. In den Blutproben waren IL-17 und IL-21 erniedrigt. Bei IL-10 und IL-22 war dies nicht signifikant.

Ebenfalls bei lungentransplantierten Mäusen wurde von Zhai et al. der Organkonservierungslösung einer Gruppe ein DPPIV-Hemmer beigefügt. Diese Gruppe wies nach der Transplantation signifikant bessere Werte in der Blutgasanalyse (BGA) etc. auf. Einschränkend muss man jedoch anmerken, dass die Proben zwei Stunden nach Reperfusion abgenommen wurden und damit kein Langzeitergebnis vorliegt [145].

Im Jahr 2009 wurde bei einer Gruppe von lungentransplantierten Ratten ebenfalls ein DPPIV-Hemmer der Perfusionslösung der Lungentransplantate beigefügt. Nach 1, 3 und 7 Tagen wurden die Tiere untersucht. Die Tiere der Gruppe, die mit dem DPPIV-Inhibitor behandelt wurde, hatten bessere Werte in der BGA, seltener ein Lungenödem und weniger reaktive Substanzen im Transplantat [146].

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass eine Hemmung der DPPIV-Aktivität immunsuppressive Wirkungen hat.

4.1.3. Herztransplantation

Auch bei der Herztransplantation gibt es Hinweise darauf, dass CD26 eine Rolle bei der Abstoßungsreaktion spielt.

Bei Ratten, die eine Herztransplantation bekommen hatten, wurde von Korom et al. [147] mit Prodigine eine irreversible Hemmung der Diphenyl-Phosphonat-Gruppe durchgeführt. Es wurden die DPPIV-Aktivität und die zelluläre CD26-Expression mittels Fluorometrie bestimmt.

Eine Abstoßungsreaktion ging bei der Kontrollgruppe mit einem DPPIV-Anstieg einher. Auch die CD26-Expression stieg an.

Bei Ratten, die mit Prodigine behandelt worden waren, bestand eine längere Transplantatüberlebensdauer. Der DPPIV-Spiegel sank. Die CD26-Expression wies einen ca. 53%igen Abfall auf.

Nach Abklingen der Wirkung des Hemmstoffes, blieb DPPIV auf dem niedrigen Level, die CD26-Expression stieg jedoch wieder an.

Die Forscher schlossen daraus, dass CD26/DPPIV eine wichtige Funktion im Mechanismus der Transplantatabstoßung hat.

Bestätigt wurde dies später durch die gleiche Forschungsgruppe [148].

Die herztransplantierten Ratten wurden mit einem CD26-Inhibitor behandelt. Die Kontrollgruppe erhielt keine Therapie. Bei den behandelten Ratten wurden weniger CD3- und T-Zell-Rezeptoren nachgewiesen als bei der Kontrollgruppe.

4.1.4. Stammzelltransplantation

Durch Behandlung mit einem Antikörper gegen CD26 konnte bei stammzelltransplantierten Mäusen das Überleben signifikant verbessert werden. Nichtbehandelte Tiere wiesen einen höheren Anteil von T-Zellen auf, die viel CD26 auf der Oberfläche exprimiert hatten, und hatten eine höhere Gefahr für eine Graft-versus-host-Reaktion. Bei den Antikörper-Mäusen konnten niedrigere

Zytokinspiegel gemessen werden. Allerdings hatte die Hemmung von CD26 keine Auswirkung auf die Enzymwirkung von DPPIV [149].

Ohnuma et al. fanden bei Patienten mit Bronchiolitis obliterans, die durch eine Graft-versus-host-Reaktion ausgelöst wurde, eine erhöhte CD26-Expression auf CD4-Zellen im Lungengewebe [150]. Außerdem war der DPPIV-Spiegel erhöht. Eine Hemmung der CD26-Kostimulation bewirkte eine Hemmung von IL-26 und DPPIV. Eine Stimulation der CD26-Kostimulation bewirkte einen Anstieg.

Alle Untersuchungen mit unterschiedlichen Transplantationsmodellen bzw. transplantierten Patienten weisen darauf hin, dass CD26 bei der Aktivierung des Immunsystems eine Rolle spielt und einen therapeutischen Ansatz für die Immunsuppression darstellen könnte.

4.2. Beantwortung der aufgestellten Fragen

4.2.1. Bestätigt sich der Zusammenhang zwischen der CD26-Expression auf T-Lymphozyten als Zeichen einer T-Zellaktivierung und einer Transplantatabstoßung in der späteren Phase nach Transplantation?

Wieland et al. haben gezeigt, dass Patienten, die in der ersten Woche nach ihrer Nierentransplantation weniger CD26-positive CD3-Zellen aufwiesen, weniger häufig eine Abstoßungsreaktion erlitten, während ein höherer Anteil CD26-positiver T-Zellen mit einem erhöhten Rejektionsrisiko verbunden war [151].

In der Vorgänger-Studie von Frau Dr. Leicht [76] waren bei Patienten, die eine Transplantatabstoßung hatten, die Werte der CD8+/CD26+-Expression am dritten und siebten Tag nach Transplantation etwa doppelt so hoch wie bei den Patienten, die keine Transplantatabstoßung hatten.

Dies konnte in der späteren Phase nach Nierentransplantation nicht mehr bestätigt werden. Es zeigte sich in unserer Studie kein signifikanter Unterschied der Biomarker zum Zeitpunkt P4 zwischen der Gruppe der Patienten ohne bzw. mit Transplantatabstoßung.

Dieses steht im Widerspruch zu den Ergebnissen, die bei Lungentransplantation gefunden wurden (Kapital 4.1.2). Wenn die DPPIV-Hemmung vor Abstoßung schützt, wäre zu erwarten gewesen, dass eine niedrigere DPPIV-Aktivität bzw. weniger CD26-positive T-Zellen mit einem geringeren Abstoßungsrisiko verbunden ist.

Ursächlich könnte sein, dass die Herkunft des im Blut gelösten CD26 bzw. der DPPIV nicht genau geklärt ist. Die in Kapitel 4.1. genannten Studien haben sich hauptsächlich mit CD26 im Gewebe beschäftigt und weniger mit den CD26-positiven T-Zellen im peripheren Blut.

Es ist z.B. nicht klar, ob eine initiale sCD26-Erhöhung durch zerstörtes Nierengewebe nach erfolgter Transplantation verursacht wird.

Zwar haben Wang et al. die Niere als CD26-Quelle ausgeschlossen und herausgefunden, dass CD26 auf Lymphozyten und Makrophagen im Knochenmark und Blut exprimiert wird [152], jedoch ist das Enzym DPPIV im Nierengewebe vorhanden und wird u.a. im Urin als Marker für eine tubuläre Störung herangezogen [153].

Im Knochenmark herrscht eine höhere Konzentration an CD26-positiven-Zellen als im peripheren Blut. Granulozyten dagegen produzieren kein CD26 auf ihrer Oberfläche [152].

Auch könnte es möglich sein, dass die Messungen aus dem peripheren Blut nicht die Situation am Transplantat widerspiegeln.

Kasprzycka et al. konnten keinen Zusammenhang zwischen der CD26-Expression auf T-Zellen, die das Transplantat infiltrieren, und denen, die sich im peripheren Blut befinden, herstellen, jedoch war dies bei CD29 der Fall, und bei CD26 war hier auch eine Tendenz zu sehen [154].

Im Lymphknoten war bei Dedeoglu et al. ein Zusammenhang zwischen der vorhandenen Anzahl der CD8-Zellen und früher Abstoßung vorhanden [155]. Dedeoglu et al. zeigten außerdem, dass ein höherer CD4/CD8-Quotient mit einem niedrigeren Abstoßungsrisiko verbunden war. Die Differenzierung der

CD8-Zellen in ihre verschiedenen Subgruppen (Memoryzellen, naive Zellen etc.) wies jedoch keine signifikante Änderung auf.

T-Zellen tragen in aktiviertem Zustand CD26 auf ihrer Oberfläche. Es wurde in unserer Studie jedoch nicht die eigentliche Expression von CD26 auf der Oberfläche bestimmt, sondern der prozentuale Anteil der Lymphozyten, die CD26 auf ihrer Oberfläche tragen, im Verhältnis zur Gesamtlymphozytenzahl.

Die genannten Studien untersuchten die frühe Phase nach Nierentransplantation. Zur CD26-Expression in einem späteren Zeitraum nach Transplantation gibt es keine Literatur, weder zum allgemeinen Verlauf von CD26 noch bei Abstoßungsreaktionen.

Die meisten Abstoßungen treten in der frühen Phase nach Transplantation auf. In der späteren Phase sind die Patienten mit ihrer Immunsuppression in der Regel stabil und gut eingestellt. Die Immunsuppressiva wurden in unserem Fall teilweise auf die Erhaltungsdosis reduziert.

Ein Grund für den nicht signifikanten Zusammenhang zwischen der CD26-Expression auf T-Lymphozyten und einer Transplantatabstoßung in unserer Studie könnte die geringe Zahl an Patienten und Abstoßungsreaktionen sein.

Es waren 70 Patienten in die Studie eingeschlossen worden.

Insgesamt lagen im kompletten Beobachtungszeitraum der späteren Phase fünf Abstoßungsreaktionen (7,1%) vor. In der frühen Phase, d.h. im Zeitraum der Vorgängerstudie von Frau Dr. Leicht [76], waren 21 Abstoßungsreaktionen (30%) aufgetreten.

Bei dieser kleinen Gruppe an Abstoßungsreaktionen ist die Aussagekraft eventuell nicht ausreichend.

Andere Studien, die die spätere Phase untersuchten, hatten unterschiedliche Abstoßungsraten.

Saatchi et al. beschäftigten sich mit dem Langzeitüberleben [156]. Bei den 475 untersuchten nierentransplantierten Patienten hatten im ersten Jahr 13 Patienten (2,8%) eine Rejektion. Im Zeitraum bis 5 Jahre waren 30 Abstoßungsreaktionen aufgetreten (6,3%). Im Verlauf war die Rejektionsrate weiter rückläufig. Diese

Rate gleicht unseren Ergebnissen von 7,1%. Dagegen war die Abstoßungsrate bei Pestana et al. mit 23% deutlich höher [157]. In diese Studie waren insgesamt 11436 Patienten eingeschlossen, die von 1998 bis 2015 ein Nierentransplantat erhalten hatten.

Marcen et al. untersuchten 1029 Patienten, die zwischen 1979 und 2007 nierentransplantiert wurden [158]. Sie fanden heraus, dass eine frühe Abstoßungsreaktion bei Patienten mit Azathioprin- und Cyclosporin A-Immunsuppression häufiger auftrat als bei den Patienten, die mit Tacrolimus behandelt wurden. Diese Differenz war im Verlauf der Zeit, d.h. nach einem Zeitraum von mindestens einem Jahr, nicht mehr nachweisbar. Von 272 Patienten, die Tacrolimus erhielten, hatten 35 Patienten (12,9%) eine Abstoßungsreaktion.

In unserer Studie wurde mit Mycophenolat, Tacrolimus und Prednisolon begonnen und nur bei auftretenden Problemen auf eine andere Immunsuppression gewechselt. Dies war bei acht Patienten der Fall.

Ein weiterer Grund für den fehlenden Zusammenhang könnte das Patientenkollektiv sein. Da die Transplantatfunktion in der späteren Phase stabiler war, hatten die Patienten weniger Untersuchungstermine im Klinikum Stuttgart als in der frühen Phase. Somit handelt es sich hier um eine wenig kontrollierte Feldstudie mit entsprechenden Störvariablen. Es ist nicht möglich, individuelle Faktoren, die die Oberflächenmarker oder die Immunsuppression beeinflussen könnten, auszuschließen.

Tacrolimus wird z.B. von mehreren Faktoren beeinflusst [159]. Während genetische Cytochrom P 450-Variationen, Alter und Rasse nicht beeinflussbar sind, kann beispielsweise die Interaktion durch Medikamente oder Nahrungsmittel beachtet werden.

Auch bei DPPIV sind inzwischen einige natürlich vorkommende DPPIV-Inhibitoren wie z.B. Reis oder Quinoa bekannt [160]. In unserer Studie gab es keine Erhebung dieser Daten, d.h. es kann nicht ausgeschlossen werden, dass

durch verschiedene Umstände die erhobenen Konzentrationen verfälscht wurden.

Zudem wurde nicht zwischen den unterschiedlichen Transplantationsvarianten (AB0-inkompatibel, Lebendspende, Leichenniere etc.) und den Patientengruppen (Alter, Geschlecht etc.) unterschieden, welche bekanntlich Auswirkungen auf die Abstoßungsrate haben [161, 162].

Neben CD26 existieren noch weitere kostimulierende Oberflächenmoleküle auf der Zelloberfläche von T-Zellen, wie z.B. CD28, CD69, CD95 oder CD154. Boleslawski et al. hatten bei erhöhter CD28-Expression auf T-Zellen eine Abstoßung innerhalb der nächsten 14 Tage nachgewiesen [163]. Für ein Panel aus den Markern CD28, CD69, CD95 und CD154 haben Boix et al. eine Vorhersage einer Abstoßungsreaktion nachweisen können [164].

Die Gruppe der kostimulatorischen Moleküle, zu denen auch CD26 zählt, scheint also eine gewisse Vorhersagekraft in Richtung Transplantatabstoßung zu haben, auch wenn in unserem Fall kein statistischer Zusammenhang bestand.

4.2.2. Korreliert die DPPIV-Aktivität im Plasma mit der CD26-Expression auf T-Lymphozyten in der späteren Phase, und kann somit die DPPIV-Aktivität als Marker für die T-Zellaktivierung verwendet werden?

Zwischen Tag 14 und der Probenentnahme P4 war sowohl bei CD3+/CD26+ % als auch bei CD4+/CD26+ % ein Abfall zu sehen. Bei CD8+/CD26+ % war hier ein Anstieg zu erahnen, welcher jedoch statistisch nicht signifikant war.

Die DPPIV-Aktivität war im Gesamtverlauf gefallen. Zwischen der Probenentnahme an Tag 14 und der in der späteren Phase war jedoch kein signifikanter Abfall mehr zu sehen.

Die aufgetretenen klinischen Ereignisse im Beobachtungszeitraum standen in keinem statistisch greifbaren Zusammenhang mit der gemessenen DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4.

Lediglich bei den Patienten mit Leukopenie konnte eine signifikant niedrigere DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 gemessen werden. Das Ergebnis war sowohl für ein Auftreten einer Leukopenie im 2-Monats- als auch im 6-Monats-Zeitraum signifikant. Bei Auftreten einer Leukopenie im 6-Monats-Zeitraum waren zudem sowohl für CD3+/CD26+ % als auch CD4+/CD26+ % niedrigere Werte zum Zeitpunkt P4 messbar.

Da es keine Korrelation zwischen den CD26-positiven T-Zellen und der DPPIV-Aktivität gab und die DPPIV-Aktivität von Tag 14 zu P4 im Gegensatz zu CD3+/CD26+% und CD4+/CD26+ % keine signifikante Veränderung aufwies, kann man davon ausgehen, dass die DPPIV-Aktivität kein geeigneter Surrogatmarker für die T-Zell-Aktivierung ist.

Diese Ergebnisse bestätigen publizierte Beobachtungen aus der Arbeitsgruppe für die frühere Phase nach Nierentransplantation [78] und andere Studien hierzu [148].

Dort wurde beobachtet, dass lösliches CD26 zwar mit der DPPIV-Aktivität korrelierte, aber nicht mit der CD26-Expression auf CD3-Zellen.

Einschränkend muss hier erwähnt werden, dass es nur wenige Studien zu DPPIV und CD26 bei Transplantation gibt.

Erweitert man die Literatursuche auf andere Krankheitsbilder, finden sich Studien, die o.g. Ergebnisse bestätigen, teilweise aber auch widerlegen.

Bei Eric-Nicolic et al. konnte beispielsweise bei Brustkrebspatienten eine erhöhte DPPIV-Aktivität nicht mit einer erhöhten prozentuellen Anzahl CD26-positiver Lymphozyten in Verbindung gebracht werden [165].

Belle et al. fanden bei Patienten mit Diabetes mellitus vom Typ 2 eine negative Korrelation zwischen der CD26-Expression auf CD3-Lymphozyten und der DPPIV-Aktivität [166]. Dies wurde auch bei Typ 1-Diabetikern nachgewiesen [167].

Dagegen haben Matic et al. bei hämatologischen Erkrankungen einen Zusammenhang zwischen einer niedrigeren DPPIV-Aktivität und einer geringeren CD26-Expression auf Lymphozyten gefunden [168].

In unserem Fall können Erklärungen für die fehlende Korrelation dadurch begründet sein, dass die Quelle der im Plasma vorhandenen DPPIV-Aktivität nicht ausschließlich T-Zellen sind [81, 86-88], dass die Freisetzung des Proteins aus T-Zellen einer Regulation unterliegt, die z.B. dazu führt, dass bei starker Immunaktivierung weniger Enzym freigesetzt wird als bei ruhendem Immunsystem [169] oder dass es Faktoren im Plasma gibt, die die Enzymaktivität zusätzlich regulieren, unabhängig vom Zustand des Immunsystems [170, 171].

Lee et al. haben bei Diabetes mellitus Typ2 einen Zusammenhang zwischen einer höheren CD26-Expression auf T-Zellen und einem erhöhten Blutzuckerspiegel festgestellt [172].

Bei den Patienten unserer Studie wurde leider das Neuauftreten eines Diabetes mellitus nicht erfasst. Das Auftreten ist jedoch nach Transplantation u.a. durch Kortikoidtherapie sehr häufig.

Auch Adipozyten können eine DPPIV-Quelle darstellen. Stengel et al. wiesen bei adipösen Patienten höhere zirkulierende DPPIV-Konzentrationen nach, was mit dem Body Mass Index korrelierte [173]. Passend hierzu wurde bei Patienten mit Anorexie eine niedrigere DPPIV-Aktivität gefunden [174]. Adipositas ist weit verbreitet. Eine Korrelation der DPPIV-Aktivität mit dem Body Mass Index wurde in unserer Studie nicht durchgeführt, aber da vor allem Prednisolon eine Gewichtszunahme bewirkt [175], könnte hier ein Zusammenhang bestehen.

Es gibt also viele Einflussfaktoren auf die DPPIV-Aktivität, die durch die Studie nicht erfasst bzw. kontrolliert werden konnten.

4.2.3. Besteht zwischen CD26-positiven T-Lymphozyten sowie der DPPIV-Aktivität im Plasma auch in der späteren Phase nach Transplantation ein Zusammenhang mit der Immunsuppression (MPA-, AcMPAG-, fMPA- und Tacrolimus-Konzentration)?

Eine schwache Korrelation bestand zwischen dem fMPAG-Spiegel und den Biomarkern CD3+CD26+%, CD4+CD26+%, CD8+CD26+% und DPPIV.

Bei CD8+CD26+% und DPPIV gab es zusätzlich eine schwache Korrelation mit Tacrolimus.

Hierbei waren höhere Immunsuppressiva-Konzentrationen mit weniger CD26-positiven T-Zellen assoziiert, wenn auch nur schwach. Dies kann ein Hinweis darauf sein, dass CD26 eine Überimmunsuppression widerspiegeln könnte, und bestätigt die Studie von Di Marco et al., die bei ihrer Untersuchung von Endothelialzellen festgestellt haben, dass sich bei immunsuppressiver Therapie mit Cyclosporinen weniger CD26-positive Vorläuferzellen im peripheren Blut befinden [176].

In den Abbildungen 17, 18 und 20 scheint es zudem, dass bis zu einer fMPA-Konzentration von etwa 100 µg/l ein stärkerer Zusammenhang zwischen CD3+/CD26+ %, CD4+/CD26+ % bzw. CD8+/CD26+ % besteht, d.h. eine höhere fMPA-Konzentration mit einem niedrigeren prozentuellen Anteil CD26-positiver CD3- bzw. CD4- bzw. CD8--Zellen einhergeht. Dies scheint plausibel, da die eigentliche immunsupprimierende Wirkung durch die freie Mycophenolsäure bedingt ist [44], während die gebundene MPA keine immunsuppressive Wirkung hat. [177, 44].

Der Verlauf von CD3+/CD26+ % und CD4+/CD26+ % von Tag 14 zu P4 zeigte einen Abfall der CD26-positiven CD3-Zellen. Bei CD8+/CD26+ % gab es keine signifikante Veränderung. Diese Verläufe spiegeln am ehesten die verminderte Immunaktivierung bzw. die adäquate Immunsuppression wider. Möglicherweise ist der Effekt mit CD8-Zellen weniger sichtbar, da, wie Mandapathil et al. festgestellt haben, deutlich mehr CD4+ T-Zellen CD26 tragen (>80%) als CD8+ T-Zellen [178].

Die Immunsuppressiva-Konzentrationen von MPA, fMPA und Tacrolimus wiesen keine signifikante Änderung von Tag 14 zu P4 auf.

Dies ist dahingehend interessant, da im Verlauf standardmäßig eine Dosisanpassung der immunsuppressiven Therapie durchgeführt wird, die bei allen Patienten die Prednisolon-Medikation betraf. Zum Zeitpunkt der Blutentnahme an P4 waren 43 der 70 Patienten sogar schon bei der Erhaltungsdosis von 5 mg/d angelangt. Aufgrund der großen individuellen Zeitspanne zwischen dem Transplantationsdatum und P4 war zum Zeitpunkt der Blutabnahme bei 41 Patienten Mycophenolat auf 3x500 mg und bei 42 Patienten der Zielbereich für Tacrolimus auf 4-6 µg/l reduziert worden.

Unklar ist, ob die Reduktion der Immunsuppressiva auch so konsequent durchgeführt wurde, wie es das Protokoll vorsieht.

Bei fMPA, MPAG und AcMPAG waren die Konzentrationen zwischen Tag 14 und P4 signifikant gefallen.

Der Abfall der MPA-Glucuronidmetabolite MPAG und AcMPAG wird häufig mit einer besseren Nierenfunktion erklärt, da die renale Elimination dieser wasserlöslichen Metabolite mit einer steigenden Filtrationsrate zunimmt [179, 180].

Dies wird durch unsere Ergebnisse insofern nicht gestützt, da im Verlauf von Tag 14 zu P4 eine leichte Verschlechterung der GFR und ein leichter Kreatininanstieg zu beobachten war. Ursächlich hierfür könnte die breite Streuung der Kreatininkonzentration und der GFR-Ergebnisse sein. Die Spanne für die GFR reichte an Tag 14 von 6 ml/min bis 111 ml/min.

Die Blutentnahmen der Patienten erfolgten an Routineuntersuchungen, bei denen u.a. der Tacrolimus-Talspiegel bestimmt wurde. Die Bestimmung von MPA oder der MPA-AUC war für die Untersuchung nicht routinemäßig vorgesehen.

Die Patienten nahmen zweimal am Tag Tacrolimus und MPA ein, weshalb bei Abnahme des Tacrolimus-Talspiegels mutmaßlich auch der MPA-Talspiegel bestimmt wurde.

Nach Einnahme von MPA steigt die Konzentration im Blut zügig an, um dann nach einem Peak langsam wieder abzufallen [181, 182].

Für MPA ist es bekannt, dass die Talspiegel, die auch hier gemessen wurden, schlecht mit der Exposition korrelieren. Daher wird für das TDM von MPA eine kurze AUC mit wenigen Messpunkten empfohlen [183-185].

4.2.4. Besteht in der späteren Phase nach Nierentransplantation ein Zusammenhang zwischen CD26-positiven T-Zellen bzw. der DPPIV-Aktivität und anderen klinischen Ereignissen als einer Transplantatabstoßung?

Es wurde überprüft, ob es eine Assoziation zwischen den Biomarkern zum Zeitpunkt P4 und anderen klinischen Ereignissen als einer Abstoßung im Beobachtungszeitraum von 2 Monaten bzw. 6 Monaten nach der Blutentnahme gab. Es sollte also geprüft werden, ob die Biomarker prädiktiv für klinische Ereignisse sein könnten.

Es stellte sich heraus, dass es keinen Zusammenhang mit Infektionen und spezifischer mit viralen Infektionen gab.

Auch in der Vorgängerstudie bis zum Tag 14 nach Transplantation war kein Zusammenhang mit der CD26 Expression auf CD3-Zellen und dem Auftreten von Infektionen beobachtet worden [76].

Essa et al. fanden in ihrer Studie bei Patienten mit Infektionen keinen Zusammenhang mit CD26-positiven T-Zellen. Es gab zwar einen höheren Anteil von CD3- und CD4-Zellen, für CD26-positive T-Zellen und für CD8-Zellen war das Ergebnis jedoch nicht signifikant [186].

Bei Ibegbu et al. wurde bei CMV-, EBV- und HIV-Infektion ebenfalls keine erhöhte CD26-Expression auf CD8+ T-Zellen festgestellt, jedoch zeigte sich bei der mit Influenza infizierten Blutprobe eine erhöhte CD26-Expression auf den CD8-Zellen [187].

Bei den Konzentrationen der Immunsuppressiva Tacrolimus, MPA und fMPA und den Metaboliten der Mycophenolsäure MPAG und AcMPAG zum Zeitpunkt P4

gab es keinen Zusammenhang mit dem Auftreten von Infektionen im Beobachtungszeitraum. Eine Ausnahme war Tacrolimus. Hier war die Konzentration zum Zeitpunkt P4 erhöht, wenn im 2-Monats-Zeitraum eine Infektion auftrat. Bei Tacrolimus und AcMPAG waren tendenziell höhere Konzentrationen an P4 messbar, wenn eine virale Infektion auftrat. Die Ergebnisse waren jedoch mit $p=0,06$ bzw. $p=0,07$ nicht signifikant.

Die Ergebnisse bestätigen ebenfalls die Vorgängerstudie, stehen aber - bis auf die Ergebnisse bei Tacrolimus im 2-Monats-Zeitraum - im Gegensatz zur Literatur, die auf einen Zusammenhang zwischen erhöhter Immunsuppression und Infektionen wie CMV, EBV, nosokomialen und gastrointestinalen Infekten hinweist [188-190].

Wie schon in Kapitel 4.2.3. erwähnt, wurde keine MPA-AUC gemessen, sondern der MPA-Talspiegel, was schlecht mit der MPA-Exposition korreliert.

Mit diesem Ansatz wäre eventuell eine Assoziation zwischen der MPA- bzw. Tacrolimus-Exposition und dem Auftreten von Infektionen deutlich geworden, wie dies publiziert ist [185, 191].

Es gab allerdings einen Zusammenhang zwischen CD26-positiven CD4+ T-Zellen und der Entwicklung einer Leukopenie in den ersten zwei Monaten und sechs Monaten nach P4. Dieser Zusammenhang war schon in der Vorgängerstudie aufgefallen, als man die Biomarker am Tag 7 und 14 gemessen hat [76]. Allerdings handelte es sich dabei eher um einen diagnostischen Ansatz, weil das Auftreten der Leukopenie zum Zeitpunkt der Biomarkermessung untersucht wurde.

Viel wertvoller ist ein Biomarker allerdings, wenn er Ereignisse mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit voraussagen kann, wie in der vorliegenden Arbeit gezeigt. Patienten, die zum Zeitpunkt P4 wenig CD26-positive CD4-Zellen aufwiesen, hätten möglicherweise von einer Reduktion der Immunsuppression profitiert und weniger Leukopenien entwickelt. Auch wenn in dieser Arbeit kein Zusammenhang zwischen Leukopenien und dem vermehrten Auftreten von Infektionen beobachtet werden konnte, so ist dieser Zusammenhang doch gut dokumentiert [192-194].

In der vorliegenden Arbeit könnte eine Ursache der kurze Nachbeobachtungszeitraum von 6 Monaten sein.

Die verminderte Zahl CD26-positiver CD4-Zellen ist im Übrigen keine Folge der Leukopenie, da die Messung auf dem Nachweis CD26-positiver T-Zellen in % beruht. Darüber hinaus war dieser Zusammenhang nicht bei allen T-Zell-Subpopulationen zu beobachten.

Interessanterweise waren auch niedrige DPPIV-Aktivitäten zum Zeitpunkt P4 schwach mit dem Auftreten oder Nicht-Auftreten von Leukopenien in den folgenden 2 bzw. 6 Monaten assoziiert. Ob diese eine verminderte T-Zell-Aktivierung widerspiegelt oder durch die verminderte Anzahl von Leukozyten schon zum Zeitpunkt P4 bedingt ist, kann nicht sicher ausgesagt werden. Zum Zeitpunkt P4 war die durchschnittliche Leukozytenzahl bei knapp 8 T/ μ l (2,3 bis 17 T/ μ l) und war von Tag 14 zu P4 auch nicht signifikant verändert.

Die Patienten, die im Beobachtungszeitraum eine Leukopenie entwickelt hatten, zeigten an P4 erhöhte Immunsuppressivkonzentrationen auf. Beim Auftreten einer Leukopenie im 2-Monats-Zeitraum war die Konzentration von Tacrolimus, %fMPA und MPAG an P4 erhöht. Im 6-Monats-Zeitraum war die Konzentration von Tacrolimus, MPA, fMPA und AcMPAG erhöht.

Mycophenolat bewirkt in Kombination mit mehreren Faktoren, wie z.B. antiviraler Therapie, eine Leukopenie [195].

Varnell et al. fanden für das Auftreten von Leukopenie bei Mycophenolat-Gabe eine Inzidenz von 24%. Es wurde eine genetische Neigung zur Leukopenie bei Mycophenolat-Medikation festgestellt [196].

Bei Brum et al. ist von einer Inzidenz von 10% bis 55,5% die Rede. Sie untersuchten nierentransplantierte Patienten mit einer Kortikoid-Mycophenolat-Tacrolimus-Immunsuppression. Bei den 64 Patienten traten in 13 Fällen eine Leukopenie auf. Als Risikofaktoren fanden Brum et al. höhere Mycophenolat-Dosierungen und eine Hochdosistherapie mit Valganciclovir. Außerdem war bei

Leichennieren eine signifikant höhere Leukopenie-Wahrscheinlichkeit festzustellen [197].

In unserer Studie erhielten 9 Patienten Gancyclovir bzw. Valgancyclovir als CMV-Prophylaxe bei CMV-positivem Spender und negativem Empfänger. Bei diesen Patienten war lediglich bei einem im 2-Monats-Zeitraum eine Leukopenie aufgetreten.

Jacobson et al. werteten die Transplantation einer Leichenniere als Risikofaktor für eine Leukopenie unter Mycophenolat-Therapie. Weitere Risikofaktoren waren die Medikation mit Kortikoiden, eine vorangegangene Transplantation und die Transplantation einer CMV-positiven Niere in einen CMV-negativen Empfänger [198], was die Risikofaktoren von Brum et al. bestätigt. Unsere Studie bestätigte diesen Zusammenhang jedoch nicht. Eine Leukopenie stand in keinem Zusammenhang mit der Art der Transplantation.

Ein Review von Yang et al. nennt eine Inzidenz von 13-35% für das Auftreten von Leukopenie bei Mycophenolat-Immunsuppression [199].

Bei Auftreten einer Leukopenie sollte ein Differentialblutbild erfolgen, um eine Neutropenie von einer Lymphozytopenie zu unterscheiden. Erstere birgt ein höheres Infektionsrisiko und damit ein höheres Risiko zu versterben [200, 201]. Außerdem scheint eine CD4-Lymphozytopenie ein Risikofaktor für das Auftreten von Infektionen und einer Transplantatfunktionsverschlechterung zu sein [202].

Für Tacrolimus sind als häufigste Nebenwirkung die Nephrotoxizität, die Neurotoxizität und das Auftreten eines Diabetes mellitus beschrieben [159].

Bei erhöhten Tacrolimus-Konzentrationen fanden Shihab et al. einen signifikanten Zusammenhang zum Auftreten einer Neutropenie. Bei Leukopenie war das Ergebnis nicht signifikant. Bei erhöhtem Tacrolimus-Spiegel waren außerdem mehr Infektionen aufgetreten [203].

Eine Differenzierung der Leukozytopenie war in unserer Studie nicht erfolgt.

Die Therapieoptionen beim Auftreten einer Leukopenie beinhalten u.a. die Reduktion der Immunsuppression (v.a. Mycophenolat und Valganciclovir) und die Gabe von G-CSF (Granulozyten-Kolonie stimulierender Faktor) [204].

Die ersteren beiden Optionen wurden durchgeführt. Eine G-CSF-Therapie war in unserer Studie nicht erfolgt.

In der vorliegenden Studie waren MPA und Tacrolimus-Konzentrationen, die zum Zeitpunkt P4 oberhalb eines mittels ROC-Kurvenanalyse ermittelten cut offs lagen, mit Leukopenien in den nächsten 2 bzw. 6 Monaten assoziiert.

Es scheint, dass eine Kombination aus den vier Parametern Prozent der CD26-positiven CD4-Zellen, DPPIV-Aktivität, MPA- und Tacrolimus-Konzentration prädiktiv für das Auftreten einer Leukopenie im Zeitraum bis sechs Monate nach der Probeentnahme ist.

4.3. Weitere potentielle Biomarker

Die Biomarker Working Group (BWG) der International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology (IATDMCT) hat sich mit erfolgversprechenden Biomarkern bei der Transplantation solider Organe befasst und eine Expertenmeinung hierzu verfasst [205].

Als Biomarker bezüglich des Abstoßungsrisikos wurden die Zytokine IL-2 und IFN- γ , die Oberflächenantigene CD154, CD26, CD28 und lösliches CD30 und die Anzahl der aktiven regulatorischen T-Lymphozyten genauer betrachtet.

Die Verbindung CD28:CD80/CD86 ist im Vergleich zu CD26 gut untersucht [206]. Es wurden CD28-Antikörper und -Agonisten entwickelt. Den Einzug in den klinischen Alltag haben sie bisher noch nicht geschafft. Von der KDIGO werden aktuell weiterhin IL-2-Antagonisten zur Induktion und die Kombination aus dem Tacrolimus und Mycophenolat plus eventueller Kortikoidgabe empfohlen [55]. Der CD80-Blocker Belatacept ist unter dem Namen Nulojix[®] erhältlich und hat seit 2011 eine Zulassung der FDA als immunsuppressives Medikament bei Nierentransplantation [207].

Bei den beiden Studien BENEFIT und BENEFIT-EXT konnte bei der Therapie mit Belatacept im Vergleich zu Calcineurininhibitoren eine bessere Nierenfunktion nachgewiesen werden [208, 209].

Bei dem CD80-Blocker handelt sich hier zwar nicht um einen Biomarker, sondern um den Therapieansatz der Kostimulationsblockade, jedoch unterstreicht diese neue Art der Immunsuppression den Stellenwert, den die kostimulatorischen Moleküle bei der Abstoßungsreaktion spielt.

Als Biomarker für die Abstoßung gibt es für CD154 inzwischen einen Test namens Pleximmune. Dieser ist für Patienten unter 21 Jahren mit Dünndarm- und Lebertransplantation zugelassen und kann das Risiko einer Abstoßungsreaktion vorhersagen. CD154 ist ebenfalls ein kostimulatorisches Molekül und ein Aktivierungsmarker [210]. Von Nachteil ist, dass die Probe bisher nur im Labor der Firma Plexision Inc in Pittsburgh (USA) [211] ausgewertet werden kann und für den Test Spenderantigene nötig sind, die nicht leicht zu erhalten sind [212]. Eine Anwendung bei uns in Deutschland ist aktuell noch nicht problemlos möglich.

4.4. Methodenkritik

In unserer Studie waren es 70 Patienten, die einbezogen wurden. Es gab nur fünf Abstoßungsreaktionen (ca. 7%), aber 15 Fälle von Leukopenie. Dies könnte eventuell der Grund sein, warum die Ergebnisse bei den Abstoßungsreaktionen nicht signifikant, die bei den Leukopenie-Fällen jedoch signifikant waren. Somit hat die Studie eventuell statistisch gesehen zu wenig Power.

Die Gewinnung unserer Proben fand im Rahmen eines geplanten Vorsorgetermins statt. Dies war organisatorisch und logistisch die einfachste Möglichkeit und hatte den Vorteil, dass die Probanden keinen weiteren Termin wahrnehmen mussten. Außerdem musste den Patienten keine zusätzliche Blutprobe abgenommen werden, was mutmaßlich die Zustimmung zur Studienteilnahme erleichterte.

Von Nachteil ist jedoch der unterschiedliche zeitliche Abstand zwischen Transplantationstag und dem Datum der Probeentnahme, der zwischen 30 und 383 Tagen betrug. Es wäre hilfreich, einen optimalen Zeitpunkt der Blutentnahme zu kennen und entsprechend so umzusetzen.

4.5. Ausblick auf die Biomarker

Ob Mikro-RNA im Urin oder Blut [213, 214] oder Antikörper gegen den Rezeptor Angiotensin-II Typ 1 (AT1RAb) [215-217], unterstützt durch die heutige moderne Technik finden sich unter dem Überbegriff „omics“ zahlreiche Elemente, die auf biochemischer Ebene die Zelle untersuchen und damit erfolgversprechende Biomarker hervorbringen [218].

Allerdings sind diese noch in der Erforschungsphase, d.h. die Studien sind in der Regel Einzelstudien und kaum vergleichbar miteinander [219].

Im Jahr 2011 gab es über 15000 Studien, die sich mit Biomarkern bei Organtransplantation beschäftigten [67].

Josep Cruzado und Edoardo Melilli haben die Fülle an neuen Markern in ihrem Editorial mit der berühmten Nadel im Heuhaufen verglichen und kritisierten methodische Fehler in vielen Studien und die aktuell fehlende Umsetzbarkeit in den klinischen Alltag [220].

5. ZUSAMMENFASSUNG

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um die Nachfolgestudie der Dissertation „CD26 als prädiktiver Marker für die Abstoßung unter der immunsuppressiven Therapie mit Myfortic® bei Patienten in der frühen Phase nach Nierentransplantation“ von Frau Dr. Simone Leicht. Die vorliegende Studie untersuchte den prädiktiven Wert der CD26-Expression auf CD3-, CD4- und CD8-Zellen und die DPPIV-Aktivität als Biomarker der T-Zell-Aktivierung für die Ereignisse Abstoßungsreaktionen, Infektionen, virale Infektionen und Leukopenie in der späteren Phase nach Nierentransplantation. Außerdem wurde analysiert, ob die Immunsuppressiva-Konzentrationen im Zusammenhang mit denselben Ereignissen stehen und ob die DPPIV-Aktivität mit den CD26-Expression auf den T-Zellen korreliert. Es wurde verglichen, ob sich die Ergebnisse in der späteren Phase von der frühen Phase nach Nierentransplantation unterscheiden.

Hierfür wurden bei 70 Patienten zum Zeitpunkt P4 (mindestens 30 Tagen nach der Transplantation) die Biomarker, d.h. die Aktivität des Enzyms DPPIV im Plasma und der prozentuale Anteil der CD26-positiven CD3-, CD4- und CD8-Zellen im Vollblut mittels Durchflusszytometrie, sowie die Immunsuppressiva-Konzentrationen von Tacrolimus, MPA, fMPA, %fMPA und der Metabolite AcMPAG und MPAG chromatografisch bestimmt und demographische und klinische Daten wie z.B. Alter oder Vortransplantationen der Patienten erhoben. Der Zeitpunkt P4 lag zwischen 30 und 383 Tagen nach der Transplantation.

Im Zeitraum von zwei bzw. sechs Monaten nach dieser Blutprobe P4 wurden die klinischen Ereignisse Abstoßungsreaktion, Infektion, virale Infektion sowie Leukopenie registriert, und es wurde das Vorhersagepotential der Biomarker und der Konzentrationen der Immunsuppressiva bezüglich der vier Ereignismöglichkeiten geprüft. Außerdem wurden die DPPIV-Aktivität mit CD3+/CD26+ %, CD4+/CD26+ % und CD8+/CD26+ % und die Biomarker mit den Immunsuppressiva-Konzentrationen korreliert.

Im Unterschied zu der Vorgängerstudie, die den frühen Zeitraum nach der Transplantation untersucht hat, konnte kein Zusammenhang zwischen der Anzahl der CD26-positiven T-Zellen bzw. der DPPIV-Aktivität zum Zeitpunkt P4 und einer Transplantatabstoßung im Nachbeobachtungszeitraum festgestellt werden. In der Vorgängerstudie waren bei CD26-positiven CD8-Zellen an Tag 3 und Tag 7 bei Patienten, die eine Abstoßungsreaktion hatten, deutlich höhere Werte gemessen worden. Allerdings waren in der Vorgängerstudie Abstoßungsreaktionen häufiger beobachtet worden (n=21), während in der hier betrachteten späteren Phase lediglich fünf Abstoßungsreaktionen auftraten. Auch zeigte sich keine Korrelation zwischen den CD26-positiven T-Zellen und der DPPIV-Aktivität, was die Ergebnisse der Vorgängerstudie bestätigte. Die DPPIV-Aktivität scheint also kein guter Surrogatparameter für die T-Zell-Aktivierung zu sein.

Es war kein Zusammenhang zwischen dem prozentualen Anteil der CD26-positiven T-Zellen bzw. der DPPIV-Aktivität und den aufgetretenen Ereignissen feststellbar, was die Ergebnisse der Vorgängerstudie bestätigte. Eine Ausnahme stellte das Auftreten einer Leukopenie dar. In der Vorgängerstudie waren die Ergebnisse hierfür nicht signifikant gewesen, jedoch war in unserem späteren Zeitraum das Über- bzw. Unterschreiten der über eine ROC-Analyse ermittelten Cut offs für CD4+/CD26+ % ($\leq 2,7$ %), der DPPIV-Aktivität ($\leq 40,9$ U/ml), der MPA-Konzentration ($> 2,33$ mg/l) und der Tacrolimus-Konzentration ($> 7,1$ µg/l) prädiktiv für das Ereignis Leukopenie.

Mit der Kombination der vier o.g. Parameter zum Zeitpunkt P4 konnte das Auftreten einer Leukopenie im Nachbeobachtungszeitraum von sechs Monaten hundertprozentig vorhergesagt werden.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Homepage zum Organspendetag
<http://www.organspendetag.de/> [Zugriff am 23.12.2017]
- [2] Deutsche Stiftung Organspende (2016) Jahresbericht Organspende und Transplantation in Deutschland
https://www.dso.de/uploads/tx_dsodl/JB_2016_Web.pdf [Zugriff am 23.12.2017]
- [3] Akbari A, Clase CM, Acott P, Battistella M, Bello A, Feltmate P, Grill A, Karsanji M, Komenda P, Madore F, Manns BJ, Mahdavi S, Mustafa RA, Smyth A, Welcher ES (2015) Canadian Society of Nephrology commentary on the KDIGO clinical practice guideline for CKD evaluation and management. *Am J Kidney Dis.* 65(2):177-205v
- [4] Geberth S, Nowak R (2011) Praxis der Dialyse. Springer-Verlag, Berlin. S. 8
- [5] Kirchner G, Krämer B, Schlitt HJ (2007) Immunsuppression nach Nierentransplantation. Uni-Med Verlag AG, Bremen. S. 30-46
- [6] Kirste G (2014) Ablauf einer postmortalen Organspende. Thieme-Refresher Organtransplantation. R1-R24
- [7] Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LY, Held PJ, Port FK (2012) Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med.* 341(23): 1725-2730
- [8] Beige J (2007) Nierentransplantation: Besser als Dialyse? *Diatra-Journal.* 3:1-2
- [9] Schweitzer EJ, Matas AJ, Gillingham KJ, Payne WD, Gores PF, Dunn DL, Sutherland DE, Najarian JS (1991) Causes of renal allograft loss. *Ann Surg.* 214(6):679-688
- [10] Beckmann J, Lück R, Klempnauer J (2009) Nierentransplantation. *Allgemein- und Viszeralchirurgie up2date.* 2:115-129
- [11] Almond PS, Matas A, Gillingham K, Dunn D, Payne W, Gores P, Gruessner R, Najarian JS (1993) Risk factors for chronic rejection in renal allograft recipients. *Transplantation.* 55(4):752-756
- [12] Kaufmann SH (2014) Basiswissen Immunologie. Springer-Verlag, Berlin. S. 105
- [13] Rocha PN, Plumb TJ, Crowley SD, Coffman TM (2003) Effector mechanisms in transplant rejection. *Immunol Rev.* 196:51-61
- [14] Kirchner G, Krämer B, Schlitt HJ (2007) Immunsuppression nach Nierentransplantation. Uni-Med Verlag AG, Bremen. S. 20-21
- [15] Erlich HA, Opelz G, Hansen J (2001) HLA DNA typing and transplantation. *Immunity.* 14(4):347-356
- [16] Schütt C, Bröker B (2011) Grundwissen Immunologie. 3. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg. S. 28-31
- [17] Rink L, Kruse A, Haase H (2012) Immunologie für Einsteiger. Springer-Verlag, Berlin. S. 70-72

- [18] Schütt C, Bröker B (2011) Grundwissen Immunologie. 3. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg. S. 24-44, 59-60
- [19] Le Moine A, Goldman M, Abramowicz D (2002) Multiple pathways to allograft rejection. *Transplantation*. 73(9):1373-1381
- [20] Mehrotra A, Leventhal J, Purroy C, Cravedi P (2015) Monitoring T cell alloreactivity. *Transplant Rev*. 29(2):53–59
- [21] Braun MY, Grandjean I, Feunou P, Duban L, Kiss R, Goldman M, Lantz O (2001) Acute rejection in the absence of cognate recognition of allograft by t cells. *J Immunol*. 166:4879-4883
- [22] Bueno V, Pestana JO (2002) The role of CD8 t cells during allograft rejection. *Braz Med Biol Res*. 35(11):1247-1258
- [23] Neumann J (2008) Immunbiologie. Springer-Verlag, Berlin. S. 60-63
- [24] Kaufmann SH (2014) Basiswissen Immunologie. Springer-Verlag, Berlin. S. 56-66
- [25] Neumayer HH, Budde K, Waiser J (2008) Neue Medikamente in der Transplantationsmedizin. 2. Aufl. Uni-Med Verlag AG, Bremen. S. 22-24
- [26] Hörig H, Medina FA, Conkright A, Kaufman H (2000) Strategies for cancer therapy using carcinoembryonic antigen vaccines. *Expert Rev Mol Med*. 2(3):1-24
- [27] Schwarz A, Schiffer M, Becker J, Haller H (2012) Kompliziert, aber erfolgreich: AB0-inkompatible Nierentransplantation. *Transplantationsmedizin*. 2:188-191
- [28] Riediger C, Lutz J, Matevossian, Novotny A, Thorban S, Heemann U, Fiess H, Büchler P (2010) Therapeutische Apherese vor AB0-inkompatibler Lebendspende der Niere. *Transplantationsmedizin*. 4:273-276
- [29] Rink L, Kruse A, Haase H (2012) Immunologie für Einsteiger. Springer-Verlag, Berlin. S. 220-223
- [30] Neumayer HH, Budde K, Waiser J (2008) Neue Medikamente in der Transplantationsmedizin. 2. Aufl. Uni-Med Verlag AG, Bremen. S. 42-57
- [31] Hailemariam S (2000) Nierentransplantation: Was leistet die Biopsie? *Schweiz Med Wochenschr*. 130:952-956
- [32] Cornell LD, Smith RN, Colvin RB (2008) Kidney transplantation: mechanisms of rejection and acceptance. *Annu Rev Pathol*. 3:189-220
- [33] Amann K, Kain R, Klöppel G (2016) Pathologie. Springer Verlag, Berlin. S. 395-398
- [34] Nankivell BJ, Alexander SI (2010) Rejection of the kidney allograft. *N Engl J Med*. 363(15):1451-1462
- [35] Keller C, Geberth S (2010) Praxis der Nephrologie. 3. Aufl. Springer-Verlag, Berlin. S. 317-318
- [36] Amann K, Kain R, Klöppel G (2016) Pathologie. Springer Verlag, Berlin. S. 402-416

- [37] Marcen R (2009) Immunosuppressive drugs in kidney transplantation: impact on patient survival, and incidence of cardiovascular disease, malignancy and infection. *Drugs*. 69(16):2227-2243
- [38] Wieland E, Olbricht CJ, Süsal C, Gurragchaa P, Bähler T, Israeli M, Sommerer C, Budde K, Hartmann B, Shipkova M, Oellerich M (2010) Biomarkers as a tool for management of immunosuppression in transplant patients. *Ther Drug Monit*. 32(5):560-572
- [39] Lüllmann H, Mohr K, Wehling M, Hein L (2016) *Pharmakologie und Toxikologie*. Thieme-Verlag, Stuttgart. S.368-369
- [40] Kuhlmann U, Hoyer J (2003) *Nephrologie: Pathophysiologie - Klinik - Nierenersatzverfahren*. 4. Auflage. Thieme-Verlag, Stuttgart. S. 608-609
- [41] Neumayer HH, Budde K, Waiser J (2008) *Neue Medikamente in der Transplantationsmedizin*. 2. Aufl. Uni-Med Verlag AG, Bremen. S. 74-75
- [42] Kuhlmann U, Hoyer J (2003) *Nephrologie: Pathophysiologie - Klinik - Nierenersatzverfahren*. 4. Auflage. Thieme-Verlag, Stuttgart. S. 613-614
- [43] Neumayer HH, Budde K, Waiser J (2008) *Neue Medikamente in der Transplantationsmedizin*. 2. Aufl. Uni-Med Verlag AG, Bremen. S. 76-78
- [44] Staats CE, Tett SE (2014) Pharmacology and toxicology of mycophenolate in organ transplant recipients: an update. *Arch Toxicol*. 88(7):1351-1389
- [45] Kuhlmann U, Hoyer J (2003) *Nephrologie: Pathophysiologie - Klinik - Nierenersatzverfahren*. 4. Auflage. Thieme-Verlag, Stuttgart. S. 612-613
- [46] Neumayer HH, Budde K, Waiser J (2008) *Neue Medikamente in der Transplantationsmedizin*. 2. Aufl. Uni-Med Verlag AG, Bremen. S. 80-81
- [47] Kaneku HK, Terasaki PI (2006) Thirty year trend in kidney transplants: UCLA and UNOS Renal Transplant Registry. *Clin Transpl*. 1-27
- [48] Pestana JM (2017) Clinical outcomes of 11,436 kidney transplants performed in a single center - Hospital do Rim. *J Bras Nefrol*. 39(3):287-295
- [49] Nowak I, Shaw LM (1995) Mycophenolic acid binding to human serum albumin: characterization and relation to pharmacodynamics. *Clin Chem*. 41(7):1011-1017
- [50] van Hest RM, Mathot RA, Pescovitz MD, Gordon R, Mamelok RD, van Gelder T (2006) Explaining variability in mycophenolic acid exposure to optimize mycophenolate mofetil dosing: a population pharmacokinetic meta-analysis of mycophenolic acid in renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol*. 17(3):871-880
- [51] Kofler S, Shvets N, Bigdeli AK, König MA, Kaczmarek P, Deutsch MA, Vogeser M, Steinbeck G, Reichart B, Kaczmarek I (2009) Proton pump inhibitors reduce mycophenolate exposure in heart transplant recipients-a prospective case-controlled study. *Am J Transplant*. 9(7):1650-1656
- [52] Kiberd BA, Wrobel M, Dandavino R, Keown P, Gourishankar S (2011) The role of proton pump inhibitors on early mycophenolic acid exposure in kidney transplantation: evidence from the CLEAR study. *Ther Drug Monit*. 33(1):120-123

- [53] Josephson MA (2011) Monitoring and managing graft health in the kidney transplant recipient. *Clin J Am Soc Nephrol.* 6(7):1774-1780
- [54] Kasiske BL, Zeier MG, Chapman JR, Craig JC, Ekberg H, Garvey CA, Green MD, Jha V, Josephson MA, Kiberd BA, Kreis HA, McDonald RA, Newmann JM, Obrador GT, Vincenti FG, Cheung M, Earley A, Raman G, Abariga S, Wagner M, Balk EM; Kidney Disease: Improving Global Outcomes (2010) KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients: a summary. *Kidney Int.* 77(4):299-311
- [55] Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group (2009) KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* 9 Suppl 3:S1-155
- [56] Türk TR, Witzke O, Zeier M (2010) KDIGO-Leitlinien zur Betreuung von Nierentransplantatempfängern. *Nephrologe.* 5:94-107
- [57] White CA, Huang D, Akbari A, Garland J, Knoll GA (2008) Performance of creatinine-based estimates of GFR in kidney transplant recipients: a systematic review. *Am J Kidney Dis.* 51(6):1005-1015
- [58] Morath C, Opelz G, Zeier M, Süsal C (2012) Prevention of antibody-mediated kidney transplantation. *Transpl Int* 25(6):633-645
- [59] Schwarz A, Gwinner W, Hiss M, Radermacher J, Mengel M, Haller H (2005) Safety and adequacy of renal transplant protocol biopsies. *Am J Transplant.* 5(8):1992-1996.
- [60] Ott U, Wolf G (2010) Indikation zur Nierenbiopsie nach Nierentransplantation. *Nephrologe* 5:466-472
- [61] Anglicheau D, Naesens M, Essig M, Gwinner W, Marquet P (2016) Establishing Biomarkers in Transplant Medicine: A Critical Review of current Approaches. *Transplantation.* 100(10): 2024-2038
- [62] Amer H, Fidler ME, Myslak M, Morales P, Kremers WK, Larson TS, Stegall MD, Cosio FG (2007) Proteinuria After Kidney Transplantation, Relationship to Allograft Histology and Survival. *American Journal of Transplantation.* 7(12): 2748–2756
- [63] Amer H, Lieske JC, Rule AD, Kremers WK, Larson TS, Palacios CR, Stegall MD, Cosio FG (2013) Urine High and Low Molecular Weight Proteins One-Year Post-Kidney Transplant: Relationship to Histology and Graft Survival. *American Journal of Transplantation.* 13(3): 676–684
- [64] Rangan GK (2006) Sirolimus-associated proteinuria and renal dysfunction. *Drug Saf.* 29(12):1153-1161
- [65] Meier-Kriesche HU, Schold JD, Srinivas TR, Kaplan B (2004) Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era. *Am J Transplant.* 4(3):378-383.
- [66] Heidt S, San Segundo D, Shankar S, Mittal S, Muthusamy AS, Friend PJ, Fuggle SV, Wood KJ (2011) Peripheral blood sampling for the detection of allograft rejection: biomarker identification and validation. *Transplantation.* 92(1):1-9
- [67] Roedder S, Vitalone M, Khatri P, Sarwal MM (2011) Biomarkers in solid organ transplantation: establishing personalized transplantation medicine. *Genome Med.* 3(6):37

- [68] Townamchai N, Eiam-Ong S (2015) Biomarkers in kidney transplantation: From bench to bedside. *World J Nephrol.* 4(5):487-491
- [69] Schmitz G, Endres S, Götte D (2008) Biomarker - Bedeutung für medizinischen Fortschritt und Nutzenbewertung. Schattauer-Verlag, Stuttgart. S. 17
- [70] Definition der Biomarker des National Institute of Environmental Health Sciences
<https://www.niehs.nih.gov/health/topics/science/biomarkers> [abgerufen am 29.12.2017]
- [71] Strimbu K, Tavel J (2010) What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS.* 5(6):463-466
- [72] Hernandez-Fuentes MP, Lechler RI (2010) A 'biomarker signature' for tolerance in transplantation. *Nat Rev Nephrol.* 6(10):606-13
- [73] Ciszek M, Mucha K, Foroniewicz B, Zochowska D, Kosieradzki M, Grochowiecki T, Durlik M, Górski A, Paczek L (2017) Immune biomarkers and long-term graft survival: a prospective follow-up of 457 kidney transplant recipients. *Pol Arch Intern Med.* 127(3):178-183
- [74] Schmitz G, Endres S, Götte D (2008) Biomarker - Bedeutung für medizinischen Fortschritt und Nutzenbewertung. Schattauer-Verlag, Stuttgart. S. 2
- [75] Lo DJ, Kaplan B, Kirk AD (2014) Biomarkers for kidney transplant rejection. *Nat Rev Nephrol.* 10(4):215-225
- [76] Leicht S (2013) CD 26 als prädiktiver Marker für die Abstoßung unter der immunsuppressiven Therapie mit Myfortic bei Patienten in der frühen Phase nach Nierentransplantation. Medizinische Dissertationsschrift, Universität Tübingen
- [77] Wieland E, Shipkova M, Martius Y, Hasche G, Bolley R, Olbricht CJ (2011) Association between pharmacodynamic biomarkers and clinical events in the early phase after kidney transplantation: a single-center pilot study. *Ther Drug Monit.* 33(3):341-349
- [78] Leicht S, Shipkova M, Klett C, Gert H, Altröck E, Wilhelm J, Bolley R, Wollmeyer J, Ender A, Luz B, Olbricht C, Wieland E (2013) CD26/dipeptidyl peptidase IV: a comparative study of healthy persons and kidney transplant recipients before and early after transplantation. *Clin Biochem.* 46(15):1383-1388
- [79] Hopsu-Havu VK, Glenner GG (1966) A new dipeptidyl naphthylamidase hydrolyzing glycyl-prolyl-beta-naphthylamide. *Histochemie.* 7(3):197-201
- [80] Fox DA, Hussey RE, Fitzgerald KA, Acuto O, Poole C, Palley L, Daley JF, Schlossman SF, Reinherz EL (1984) Ta1, a novel 105 KD human T cell activation antigen defined by a monoclonal antibody. *J Immunol.* 133(3):1250-1256
- [81] Hegen M, Niedobitek G, Klein CE, Stein H, Fleischer B (1990) The T cell triggering molecule Tp103 is associated with dipeptidyl aminopeptidase IV activity. *J Immunol.* 144(8):2908-2914
- [82] Dang NH, Hafler DA, Schlossman SF, Breitmeyer JB (1990) FcR-mediated crosslinking of Ta1 (CD26) induces human T lymphocyte activation. *Cell Immunol.* 125(1):42-57
- [83] Dang NH, Torimoto Y, Schlossman SF, Morimoto C (1990) Human CD4 helper T cell activation: functional involvement of two distinct collagen receptors, 1F7 and VLA integrin family. *J Exp Med.* 172(2):649-652

- [84] Ohnuma K, Hosono O, Dang NH, Morimoto C (2011) Dipeptidyl peptidase in autoimmune pathophysiology. *Adv Clin Chem.* 53:51-84
- [85] Torimoto Y, Dang NH, Tanaka T, Prado C, Schlossman SF, Morimoto C (1992) Biochemical characterization of CD26 (dipeptidyl peptidase IV): functional comparison of distinct epitopes recognized by various anti-CD26 monoclonal antibodies. *Mol Immunol.* 29(2):183-192
- [86] Ulmer AJ, Mattern T, Feller AC, Heymann E, Flad HD (1990) CD26 antigen is a surface dipeptidyl peptidase IV (DPPIV) as characterized by monoclonal antibodies clone TII-19-4-7 and 4EL1C7. *Scand J Immunol.* 31(4):429-435
- [87] Gossrau R (1979) Peptidase II. Zur Lokalisation der Dipeptidylpeptidase IV (DPPIV). Histochemische und biochemische Untersuchung. *Histochemistry* 60(2):231-248
- [88] Abbott CA, Baker E, Sutherland GR, McCoughan GW (1994) Genomic organization, exact localization, and tissue expression of human CD26 (dipeptidyl peptidase IV) gene. *Immunogenetics.* 40(5):331-338
- [89] Mattern T, Scholz W, Heller AC, Flad HD, Ulmer AJ (1991) Expression of CD26 (dipeptidyl peptidase IV) on resting and activated human T-lymphocytes. *Scand J Immunol.* 33(6):737-748
- [90] Mentlein R, Heymann E, Scholz W, Feller AC, Flad HD (1984) Dipeptidyl peptidase IV as a new surface marker for a subpopulation of human T-lymphocytes. *Cell Immunol* 89(1):11-19
- [91] Tanaka T, Camerini D, Seed B, Torimoto Y, Dang NH, Kameoka J, Dahlberg HN, Schlossman SF, Morimoto C (1992) Cloning and functional expression of the T cell activation antigen CD26. *J Immunol.* 149(2):481-486
- [92] De Meester I, Korom S, Van Damme J, Scharpé S (1999) CD26, let it cut or cut it down. *Immunol Today.* 20(8):367-375
- [93] Kim SH, Yoo JH, Lee WJ, Park CY (2016) Gemigliptin: An Update of Its Clinical Use in the Management of Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes Metab J.* 40(5):339-353
- [94] Sedo A, Duke-Cohan JS, Balaziová E, Sedová LR (2005) Dipeptidyl peptidase IV activity and/or structure homologs: Contributing factors in the pathogenesis of rheumatoid arthritis? *Arthritis Res Ther.* 7(6):253-269
- [95] Lojda Z (1977) Studies on glycyl-proline naphthylamidase. I. Lymphocytes. *Histochemistry.* 54(4):299-309
- [96] Hendriks D, De Meester I, Umiel T, Vanhoof G, van Sande M, Scharpé S, Yaron A (1991) Aminopeptidase P and dipeptidyl peptidase IV activity in human leucocytes and in stimulated lymphocytes. *Clin Chim Acta.* 196(2-3):87-96
- [97] Flentke GR, Munoz E, Huber BT, Plaut AG, Kettner CA, Bachovchin WW (1991) Inhibition of dipeptidyl aminopeptidase IV (DP-IV) by Xaa-boroPro dipeptides and use of these inhibitors to examine the role of DP-IV in T-cell function. *Proc Natl Acad Sci USA.* 88(4):1556-9
- [98] Lambeir AM, Durinx C, Scharpé S, De Meester I (2003) Dipeptidyl-peptidase IV from bench to bedside: an update on structural properties, functions, and clinical aspects of the enzyme DPP IV. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 40(3):209-294

- [99] Yoo E, Paganessi LA, Alikhan WA, Paganessi EA, Hughes F, Fung HC, Rich E, Seong CM, Christopherson KW 2nd (2013) Loss of CD26 protease activity in recipient mice during hematopoietic stem cell transplantation results in improved transplant efficiency. *Transfusion*. 53(4):878-887
- [100] Torimoto Y, Dang NH, Vivier E, Tanaka T, Schlossman SF, Morimoto C (1001) Coassociation of CD26 (dipeptidyl peptidase IV) with CD45 on surface of human T lymphocytes. *J Immunol*. 147(8):2514-2517
- [101] Kameoka J, Tanaka T, Nojima Y, Schlossman SF, Morimoto C (1993) Direct association of adenosine deaminase with a T cell activation antigen, CD26. *Science*. 261(5120):466-469
- [102] Fleischer B (1994) CD26: a surface protease involved in T-cell activation. *Immunol Today*. 15(4):180-184
- [103] Havre PA, Abe M, Urasaki Y, Ohnuma K, Morimoto C, Hang NH (2008) The role of CD26/dipeptidyl peptidase IV in cancer. *Front Biosci*. 13:1634-45
- [104] Weaver CT, Pingel JT, Nelson JO, Thomas ML (1991) CD8+ T-cell clones deficient in the expression of the CD45 protein tyrosine phosphatase have impaired responses to T-cell receptor stimuli. *Mol Cell Biol*. 11(9):4415-4422
- [105] Trowbridge IS, Thomas ML (1994) CD45: an emerging role as a protein tyrosine phosphatase required for lymphocyte activation and development. *Annu Rev Immunol*. 12:85-116
- [106] Morrison ME, Vijayasaradhi S, Engelstein D, Albino AP, Houghton AN (1993) A marker for neoplastic progression of human melanocytes is a cell surface ectopeptidase. *J Exp Med*. 177(4):1135-1143
- [107] Dong RP, Kameoka J, Hegen M, Tanaka T, Xu Y, Schlossman SF, Morimoto C (1996) Characterization of adenosine deaminase binding to human CD26 on T cells and its biologic role in immune response. *J Immunol*. 156(4):1349-1355
- [108] Pacheco R, Lluís C, Franco R (2005) Role of CD26-adenosine deaminase interaction in T cell-mediated immunity. *Immunologia*. 25(2):235-245
- [109] Antonioli L, Fornai M, Colucci R, Ghisu N, Da Settimo F, Natale G, Kastsiuchenka O, Duranti E, Viridis A, Vassalle C, La Motta C, Mugnaini L, Breschi MC, Blandizzi C, Del Taca M (2007) Inhibition of adenosine deaminase attenuates inflammation in experimental colitis. *J Pharmacol Exp Ther*. 322(2):435-442
- [110] Klemann C, Wagner L, Stephan M, von Hörsten S (2016) Cut to the chase: a review of CD26/dipeptidyl peptidase-4's (DPP4) entanglement in the immune system. *Clin Exp Immunol*. 185(1):1-21
- [111] Ginés S, Mariño M, Mallol J, Canela EI, Morimoto C, Callebaut C, Hovanessian A, Casadó V, Lluís C, Franco R (2002) Regulation of epithelial and lymphocyte cell adhesion by adenosine deaminase-CD26 interaction. *Biochem J*. 361(Pt 2):203-209
- [112] Saunders AE, Johnson P (2010) Modulation of immune cell signalling by the leukocyte common tyrosine phosphatase, CD45. *Cell Signal*. 22(3):339-348

- [113] Ishii T, Ohnuma K, Murakami A, Takasawa N, Kobayashi S, Dang NH, Schlossman SF, Morimoto C (2001) CD26-mediated signaling for T cell activation occurs in lipid rafts through its association with CD45RO. *Proc Natl Acad Sci USA*. 98(21):12138-12143
- [114] Jungraithmayr W, De Meester I, Matheussen V, Inci I, Augustyns K, Scharpé S, Weder W, Korom S (2010) Inhibition of CD26/DPPIV attenuates ischemia/reperfusion injury in orthotopic mouse lung transplants: the pivotal role of vasoactive intestinal peptide. *Peptides*. 31(4):585-591
- [115] Shipkova M, Wieland E (2012) Surface markers of lymphocyte activation and markers of cell proliferation. *Clin Chim Acta*. 423(17-18):1338-1349
- [116] Van Gelder T, Tedesco Silva J, de Fijter JW, Budde K, Kuypers D, Arns W, Souillou JP, Kanellis J, Zelvys A, Ekberg H, Holzer H, Rostaing L, Mamelok RD (2010) Renal transplant patients at high risk of acute rejection benefit from adequate exposure to mycophenolic acid. *Transplantation*. 89(5):595-599
- [117] Uchida J, Machida Y, Iwai T, Kuwabara N, Iguchi T, Naganuma T, Kumada N, Kawadhima H, Nakatani T (2011) Clinical outcome of ABO-incompatible living unrelated donor kidney transplantation. *Urol Int*. 86(3):307-314
- [118] Haas M (2016) The Revised (2013) Banff Classification for Antibody-Mediated Rejection of Renal Allografts: Update, Difficulties, and Future Considerations. *Am J Transplant*. 16(5):1352-1357
- [119] Halloran PF, Hunsicker LG (2001) Delayed graft function: state of the art, November 10-11, 2000. Summit meeting, Scottsdale, Arizona, USA. *Am J Transplant*. 1(2):115-120
- [120] Levey AS, Coresh J, Greene T, Marsh J, Stevens LA, Kusek JW, Van Lente F, Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (2007) Expressing the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate with standardized serum creatinine values. *Clin Chem*. 53(4):766-772
- [121] Durinx C, Lambeir AM, Bosmans E, Falmagne JB, Berghmans R, Haemers A, Scharpé S, De Meester I (2000) Molecular characterization of dipeptidyl peptidase activity in serum: soluble CD26/dipeptidyl peptidase IV is responsible for the release of X-Pr dipeptides. *Eur J Biochem*. 267(17):5608-5613
- [122] Hildebrandt M, Rose M, Mayr C, Schüler C, Reutter W, Salama A, Klapp BF (1999) Alterations in expression and in serum activity of dipeptidyl peptidase IV (DPP IV, CD26) in patients with hyporectic eating disorders. *Scand J Immunol*. 50(5):536-541
- [123] Valbuena H, Shipkova M, Kliesch SM, Müller S, Wieland E (2016) Comparing the effect of isotopically labeled or structural analog internal standards on the performance of a LC-MS/MS method to determine ciclosporin A, everolimus, sirolimus and tacrolimus in whole blood. *Clin Chem Lab Med*. 54(3):437-446
- [124] Streit F, Armstrong VW, Oellerich M (2002) Rapid liquid chromatography-tandem mass spectrometry routine method for simultaneous determination of sirolimus, everolimus, tacrolimus, and cyclosporin A in whole blood. *Clin Chem*. 48(6):955-958
- [125] Shipkova M, Niedmann PD, Armstrong VW, Schütz E, Wieland E, Shaw LM, Oellerich M (1998) Simultaneous determination of mycophenolic acid and its glucuronide in human plasma using a simple high-performance liquid chromatography procedure. *Clin Chem*. 44(7):1481-488

- [126] Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen
http://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user_upload/downloads/Rili-BAEK-Laboratoriumsmedizin.pdf [Zugriff am 31.12.2017]
- [127] Keller C, Geberth S (2010) Praxis der Nephrologie. 3. Aufl. Springer-Verlag, Berlin. S.305
- [128] Jänigen B, Billmann F, Pisarski P (2016) Nierentransplantation. S. 240 aus: Billmann F, Keck T (Hrsg.) Facharztwissen Viszeral- und Allgemein Chirurgie. Springer-Verlag, Berlin
- [129] Morimoto C, Torimoto Y, Levinson G, Rudd CE, Schrieber M, Dang NH, Letvin NL, Schlossman SF (1989) 1F7, a novel cell surface molecule involved in helper function of CD4 cells. *J Immunol.* 143(11):3430-3439
- [130] Ohnuma K, Uchiyama M, Hatano R, Takasawa W, Endo Y, Dang NH, Morimoto C (2009) Blockade of CD26-mediated T cell costimulation with soluble caveolin-1-Ig fusion protein induces anergy in CD4+T cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 386(2):327-332
- [131] Hatano R, Ohnuma K, Otsuka H, Komiya E, Taki I, Iwata S, Dang NH, Okumura K, Morimoto C (2015) CD26-mediated induction of EGR2 and IL-10 as potential regulatory mechanism for CD26 costimulatory pathway. *J Immunol.* 194(3):960-72
- [132] Waumans Y, Baerts L, Kehoe K, Lambeir AM, De Meester I (2015) The Dipeptidyl Peptidase Family, Prolyl Oligopeptidase, and Prolyl Carboxypeptidase in the Immune System and Inflammatory Disease, Including Atherosclerosis. *Front Immunol.* 6:387
- [133] Kim SH, Yoo JH, Lee WJ, Park CY (2016) Gemigliptin: An Update of Its Clinical Use in the Management of Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes Metab J.* 40(5):339-353
- [134] Gallwitz B (2005) New therapeutic strategies for the treatment of type 2 diabetes mellitus based on incretins. *Rev Diabet Stud.* 2(2):61-69
- [135] Scheen AJ, Delanaye P (2017) Renal outcomes with dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Diabetes Metab.* Article in press
<https://doi.org/10.1016/j.diabet.2017.07.011> [letzter Zugriff am 29.01.2018]
- [136] Amori RE, Lau J, Pittas AG (2007) Efficacy and safety of incretin therapy in type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 298(2):194-206
- [137] Willemen MJ, Mantel-Teeuwisse AK, Straus SM, Meyboom RH, Egberts TC, Leufkens HG (2011) Use of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and the reporting of infections: a disproportionality analysis in the World Health Organization VigiBase. *Diabetes Care.* 34(2):369-374
- [138] Yang W, Cai X, Han X, Ji L (2016) DPP-4 inhibitors and risk of infections: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Diabetes Metab Res Rev.* 32(4):391-404
- [139] Korom S, De Meester I, Maas E, Stein A, Wilker S, Jung F, Weimer R, Brendel MD, Ernst W, Friemann S, Linder R, Grimm H, Padberg W, Scharpé S, Kupiec-Weglinski JW, Schwemmler K (2002) CD26 expression and enzymatic activity in recipients of kidney allografts. *Transplant Proc.* 34(5):1753-1754

- [140] Nakao K, Nagake Y, Okamoto A, Ichikawa H, Yamamura M, Makino H (2002) Serum levels of soluble CD26 and CD30 in patients on hemodialysis. *Nephron*. 91(2):215-221
- [141] Jung FJ, Yang L, De Meester I, Augustyns K, Cardell M, Hillinger S, Vogt P, Lardinois D, Scharpé S, Weder W, Korom S (2006) CD26/dipeptidylpeptidase IV-targeted therapy of acute lung rejection in rats. *J Heart Lung Transplant*. 25(9):1109-1116
- [142] Riemer C, von Hoersten S, Hoffmann T, Li Y, Moerike C, Haverich A, Simon AR (2007) Inhibition of CD26 significantly reduces rejection after orthotopic single lung transplantation in the rat. *Tx Med*. 19:8
- [143] Jungraithmayr W, Oberreiter B, De Meester I, Wiedl T, Inci I, Bain M, Augustyns K, Hillinger S, Scharpé S, Weder W, Korom S (2009) The effect of organ-specific CD26/DPP IV enzymatic activity inhibitor-preconditioning on acute pulmonary allograft rejection. *Transplantation*. 88(4):478-485
- [144] Yamada Y, Jang JH, De Meester I, Baerts L, Vliegen G, Inci I, Yoshino I, Weder W, Jungraithmayr W (2018) CD26 costimulatory blockade improves lung allograft rejection and is associated with enhanced interleukin-10 expression. *J Heart Lung Transplant*. 35(4):508-517
- [145] Zhai W, Cardell M, De Meester I, Augustyns K, Hillinger S, Inci I, Arni S, Jungraithmayr W, Scharpé S, Weder W, Korom S (2006) Ischemia/reperfusion injury: The role of CD26/dipeptidyl-peptidase-IV-inhibition in lung transplantation. *Transplant Proc*. 38(10):3369-3371.
- [146] Zhai W, Jungraithmayr W, De Meester I, Inci I, Augustyns K, Arni S, Hillinger S, Scharpé S, Weder W, Korom S (2009) Primary graft dysfunction in lung transplantation: the role of CD26/dipeptidylpeptidase IV and vasoactive intestinal peptide. *Transplantation*. 87(8):1140-1146
- [147] Korom S, De Meester I, Stadlbauer TH, Chandraker A, Schaub M, Sayegh MH, Belyaev A, Haemers A, Scharpé S, Kupiec-Weglinski JW (1997) Inhibition of CD26/dipeptidyl peptidase IV activity in vivo prolongs cardiac allograft survival in rat recipients. *Transplantation*. 63(10):1495-1500
- [148] Korom S, De Meester I, Coito AJ, Graser E, Pratschke J, König S, Grimm H, Volk HD, Scharpé S, Kupiec-Weglinski JW (1999) CD26/DPP IV-mediated modulation of acute rejection. *Transplant Proc*. 31(1-2):873
- [149] Hatano R, Ohnuma K, Yamamoto J, Dang NH, Yamada T, Morimoto C (2013) Prevention of acute graft-versus-host disease by humanized anti-CD26 monoclonal antibody. *Br J Haematol*. 162(2):263-277
- [150] Ohnuma K, Hatano R, Aune TM, Otsuka H, Iwata S, Dang NH, Yamada T, Morimoto C (2015) Regulation of pulmonary graft-versus-host disease by IL-26+CD26+CD4 T lymphocytes. *J Immunol*. 194(8):3697-3712
- [151] Wieland E, Shipkova M, Martius Y, Hasche G, Klett C, Bolley R, Olbricht CJ (2011) Association between pharmacodynamic biomarkers and clinical events in the early phase after kidney transplantation: a single-center pilot study. *Ther Drug Monit*. 33(3):341-349
- [152] Wang Z, Grigo C, Steinbeck J, von Hörsten S, Amann K, Daniel C (2014) Soluble DPP4 originates in part from bone marrow cells and not from the kidney. *Peptides*. 57:109-117

- [153] Hofmann W, Ehrich JH, Guder WG, Keller F, Scherberich J, Arbeitsgruppe Diagnostische Pfade der Deutschen Vereinten Gesellschaft für Klinische Chemie und der Deutschen Gesellschaft für Nephrologie (2011) Arbeitsgruppenbericht Diagnostische Pfade bei Nierenerkrankungen. *J Lab Med.* 35(3):127-146
- [154] Kasprzycka M, Nowaczyk M, Górski A, Korczak-Kowalsak G, Wyzgał J, Durlík M, Rell K, Klosowska D, Chmura A (2000) Graft infiltrating t-lymphocyte expression of CD26, CD29, and CD49e molecules and genes. *Transplant Proc.* 32(6):1391-1392
- [155] Dedeoglu B, Litjens NH, de Weerd AE, Dor FJ, Klepper M, Reijkerkerk D, Baan CC, Betjes MG (2017) T-Cell Composition of the Lymph Node Is Associated with the Risk for Early Rejection after Renal Transplantation. *Front Immunol.* 8:1416
- [156] Saatchi M, Poorolajal J, Amirzargar MA, Mahjub H, Esmailnasab N (2013) Long-term survival rate of kidney graft and associated prognostic factors: a retrospective cohort study, 1994-2011. *Ann Transplant.* 18:153-160
- [157] Pestana JM (2017) Clinical outcomes of 11,436 kidney transplants performed in a single center - Hospital do Rim. *J Bras Nefrol.* 39(3):287-295
- [158] Marcén R (2009) Immunosuppressive drugs in kidney transplantation: impact on patient survival, and incidence of cardiovascular disease, malignancy and infection. *Drugs.* 69(16):2227-2243
- [159] Scalea JR, Levi ST, Ally W, Brayman KL (2016) Tacrolimus for the prevention and treatment of rejection of solid organ transplants. *Expert Rev Clin Immunol.* 12(3):333-42
- [160] Vliegen G, De Meester I. DPPIV/CD26 as a Target in Anti-inflammatory Therapie. S 138. Aus: Chatterjee S, Jungraithmayr W, Bagchi D (Hrsg.) (2017) *Immunity and Inflammation in Health and Disease.* Elsevier, Amsterdam
- [161] Sieńko J, Wiśniewska M, Ostrowski M, Ciechanowski K, Safranow K, Chudyk A, Fronczyk A, Różański J, Kamiński M, Sulikowski T, Romanowski M, Pabisiak K, Paczkowski M, Mizerski A (2003) Factors that impact on immediate graft function in patients after renal transplantation. *Transplant Proc.* 35(6):2153-2154
- [162] Lee SH, Oh CK, Shin GT, Kim H, Kim SJ, Kim SI (2014) Age matching improves graft survival after living donor kidney transplantation. *Transplant Proc.* 46(2):449-53
- [163] Boleslawski E, BenOthman S, Grabar S, Correia L, Podevin P, Chouzenoux S, Soubrane O, Calmus Y, Conti F (2008) CD25, CD28 and CD38 expression in peripheral blood lymphocytes as a tool to predict acute rejection after liver transplantation. *Clin Transplant.* 22(4):494-501
- [164] Boix F, Bolarín JM, Eguía J, Gonzalez-Martinez G, De La Peña J, Galian JA, Hernández-Martínez AM, Moya-Quiles MR, Legaz I, Campillo JA, Ramirez P, Sanchez-Bueno F, García-Alonso AM, Pons JA, Minguela A, Llorente S, Muro M (2016) Pretransplant CD28 Biomarker (Levels of Expression and Quantification of Molecules per Cell) in Peripheral CD4(+) T Cells predicts Acute Rejection Episodes in Liver and Kidney Recipients. *Transplant Proc.* 48(9):2987-2989
- [165] Erić-Nikolić A, Matic IZ, Dorđević M, Milovanović Z, Marković I, Džodić R, Inić M, Srdić-Rajić T, Jevrić M, Gavrilović D, Cordero OJ, Juranić ZD (2011) Serum DPPIV activity and CD26 expression on lymphocytes in patients with benign or malignant breast tumors. *Immunobiology.* 216(8):942-946

- [166] Bellé LP, Bitencourt PE, de Bona KS, Zanette RA, Moresco RN, Moretto MB (2011) Expression of CD26 and its association with dipeptidyl peptidase IV activity in lymphocytes of type 2 diabetes patients. *Cell Biochem Biophys.* 61(2):297-302
- [167] Varga T, Somogyi A, Barna G, Wichmann B, Nagy G, Rácz K, Selmeči L, Firneisz G (2011) Higher serum DPP-4 enzyme activity and decreased lymphocyte CD26 expression in type 1 diabetes. *Pathol Oncol Res.* 17(4):925-930
- [168] Matic IZ, Đorđević M, Đorđić M, Grozdanić N, Damjanović A, Kolundžija B, Vidović A, Bila J, Ristić S, Mihaljević B, Tomin D, Milanović N, Ristić D, Purić M, Gavrilović D, Cordero OJ, Juranić ZD (2013) Dipeptidyl peptidase IV: serum activity and expression on lymphocytes in different hematological malignancies. *Leuk Lymphoma.* 54(12):2701-2706
- [169] Gorrell MD, Gysbers V, McCaughan GW (2001) CD26: a multifunctional integral membrane and secreted protein of activated lymphocytes. *Scand J Immunol.* 54(3):249-264
- [170] Klemann C, Wagner L, Stephan M, von Hörsten S (2016) Cut to the chase: a review of CD26/dipeptidyl peptidase-4's (DPP4) entanglement in the immune system. *Clin Exp Immunol.* 185(1):1-21
- [171] Boonacker E, Van Noorden CJ (2003) The multifunctional or moonlighting protein CD26/DPPIV. *Eur J Cell Biol.* 82(2):53-73
- [172] Lee SA, Kim YR, Yang EJ, Kwon EJ, Kim SH, Kang SH, Park DB, Oh BC, Kim J, Heo ST, Koh G, Lee DH (2013) CD26/DPP4 levels in peripheral blood and T cells in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 98(6):2553-2561
- [173] Stengel A, Goebel-Stengel M, Teuffel P, Hofmann T, Buße P, Kobelt P, Rose M, Klapp BF (2014) Obese patients have higher circulating protein levels of dipeptidylpeptidase IV. *Peptides.* 61:75-82
- [174] van West D, Monteleone P, Di Lieto A, De Meester I, Durinx C, Scharpe S, Lin A, Maj M, Maes M (2000) Lowered serum dipeptidyl peptidase IV activity in patients with anorexia and bulimia nervosa. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 250(2):86-92
- [175] Wallace AM, Tucker P, Williams DM, Hughes IA, Ahmed SF (2003) Short-term effects of prednisolone and dexamethasone on circulating concentrations of leptin and sex hormone-binding globulin in children being treated for acute lymphoblastic leukaemia. *Clin Endocrinol (Oxf).* 58(6):770-776
- [176] Di Marco GS, Rustemeyer P, Brand M, Koch R, Kentrup D, Grabner A, Greve B, Wittkowski W, Pavenstädt H, Hausberg M, Reuter S, Lang D (2011) Circulating endothelial progenitor cells in kidney transplant patients. *PLoS One.* 2011;6(9):e24046 (Epub)
doi: 10.1371/journal.pone.0024046 [Zugriff zuletzt am 29.01.2018]
- [177] Nowak I, Shaw LM (1995) Mycophenolic acid binding to human serum albumin: characterization and relation to pharmacodynamics. *Clin Chem.* 41(7):1011-1017
- [178] Mandapathil M, Hilldorfer B, Szczepanski MJ, Czystowska M, Szajnik M, Ren J, Lang S, Jackson EK, Gorelik E, Whiteside TL (2010) Generation and accumulation of immunosuppressive adenosine by human CD4+CD25highFOXP3+ regulatory T cells. *J Biol Chem.* 285(10):7176-7186

- [179] Baczkowska T, Sadowska A, Perkowska-Ptasinska A, Lewandowski Z, Cieciora T, Pazik J, Wazna E, Kozinska OP, Nowacka Cieciora E, Chmura A, Durlik M (2009) Optimal mycophenolic acid and mycophenolic acid glucuronide levels at the early period after kidney transplantation are the key contributors to improving long-term outcomes. *Transplant Proc.* 41(8):3019-3023
- [180] Bullingham RE, Nicholls AJ, Kamm BR (1998) Clinical pharmacokinetics of mycophenolate mofetil. *Clin Pharmacokinet.* 1998 Jun;34(6):429-55
- [181] Weber LT, Lamersdorf T, Shipkova M, Niedmann PD, Wiesel M, Zimmerhackl LB, Staskewitz A, Schütz E, Mehls O, Oellerich M, Armstrong VW, Tönshoff B (1999) Area under the plasma concentration-time curve for total, but not for free, mycophenolic acid increases in the stable phase after renal transplantation: a longitudinal study in pediatric patients. German Study Group on Mycophenolate Mofetil Therapy in Pediatric Renal Transplant Recipients. *Ther Drug Monit.* 21(5):498-506
- [182] Prémaud A, Rousseau A, Johnson G, Canivet C, Gandia P, Muscari F, Peron JM, Rostaing L, Marquet P, Kamar N (2011) Inhibition of T-cell activation and proliferation by mycophenolic acid in patients awaiting liver transplantation: PK/PD relationships. *Pharmacol Res.* 63(5):432-438
- [183] Kuypers DR, Le Meur Y, Cantarovich M, Tredger MJ, Tett SE, Cattaneo D, Tönshoff B, Holt DW, Chapman J, Gelder Tv; Transplantation Society (TTS) Consensus Group on TDM of MPA (2010) Consensus report on therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid in solid organ transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol.* 5(2):341-58
- [184] Tönshoff B, Weber LT, Höcher B, Köpf S, Zimmerhackl LB, Armstrong VW, Oellerich M (2004) Der Stellenwert des Immunsuppressivums Mycophenolatmofetil bei pädiatrischen Nierentransplantatempfängern. *Tx Med.* 16:26-37
- [185] Le Meur Y, Borrows R, Pescovitz MD, Budde K, Grinyo J, Bloom R, Gaston R, Walker RG, Kuypers D, van Gelder T, Kiberd B (2011) Therapeutic drug monitoring of mycophenolates in kidney transplantation: report of The Transplantation Society consensus meeting. *Transplant Rev (Orlando).* 25(2):58-64
- [186] Essa S, Pacsa AS, Raghupathy R, Al-Attayah R, El-Shazly A, Said T (2002) CD4(+) T cell levels are decreased during active CMV infection in kidney transplant recipients. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 34(1):17-22
- [187] Ibegbu CC, Xu YX, Fillos D, Radziewicz H, Grakoui A, Kourtis AP (2009) Differential expression of CD26 on virus-specific CD8(+) T cells during active, latent and resolved infection. *Immunology.* 126(3):346-353
- [188] Karuthu S, Blumberg EA (2012) Common infections in kidney transplant recipients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 7(12):2058-70
- [189] Dantas SR, Kuboyama RH, Mazzali M, Moretti ML (2006) Nosocomial infections in renal transplant patients: risk factors and treatment implications associated with urinary tract and surgical site infections. *J Hosp Infect.* 63(2):117-123
- [190] Danziger-Isakov L (2014) Gastrointestinal infections after transplantation. *Curr Opin Gastroenterol.* 30(1):40-46
- [191] Li CJ, Li L (2015) Tacrolimus in preventing transplant rejection in Chinese patients--optimizing use. *Drug Des Devel Ther.* 9:473-485

- [192] Brunck ME, Nielsen LK (2014) Concise review: next-generation cell therapies to prevent infections in neutropenic patients. *Stem Cells Transl Med.* 3(4):541-548
- [193] Lee SW, Park MC, Lee SK, Park YB (2013) Adjusted neutropenia is associated with early serious infection in systemic lupus erythematosus. *Mod Rheumatol.* 23(3):509-515
- [194] Vioral AN, Wentley D (2015) Managing oncology neutropenia and sepsis in the intensive care unit. *Crit Care Nurs Q.* 38(2):165-174
- [195] The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group (1996) A blinded, randomized clinical trial of mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in cadaveric renal transplantation. *Transplantation.* 61(7):1029-1037
- [196] Varnell CD, Fukuda T, Kirby CL, Martin LJ, Warshaw BL, Patel HP, Chand DH, Barletta GM, Van Why SK, VanDeVoorde RG, Weaver DJ, Wilson A, Verghese PS, Vinks AA, Greenbaum LA, Goebel J, Hooper DK (2017) Mycophenolate mofetil-related leukopenia in children and young adults following kidney transplantation: Influence of genes and drugs. *Pediatr Transplant.* 21(7)
- [197] Brum S, Nolasco F, Sousa J, Ferreira A, Possante M, Pinto JR, Barroso E, Santos JR (2008) Leukopenia in kidney transplant patients with the association of valganciclovir and mycophenolate mofetil. *Transplant Proc.* 40(3):752-754
- [198] Jacobson PA, Schladt D, Oetting WS, Leduc R, Guan W, Matas AJ, Lamba V, Mannon RB, Julian BA, Israni A; DeKAF investigators (2011) Genetic determinants of mycophenolate-related anemia and leukopenia after transplantation. *Transplantation.* 91(3):309-316
- [199] Yang Y, Yu B, Chen Y (2015) Blood disorders typically associated with renal transplantation. *Front Cell Dev Biol.* 3:18
- [200] Reindl-Schwaighofer R, Oberbauer R (2014) Blood disorders after kidney transplantation. *Transplant Rev (Orlando).* 28(2):63-75
- [201] Ducloux D, Courivaud C, Bamoulid J, Vivet B, Chabroux A, Deschamps M, Rebibou JM, Ferrand C, Chalopin JM, Tiberghien P, Saas P (2010) Prolonged CD4 T cell lymphopenia increases morbidity and mortality after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 21(5):868-875
- [202] Luque Y, Jamme M, Rabant M, DeWolf S, Noël LH, Thervet E, Chatenoud L, Snanoudj R, Anglicheau D, Legendre C, Candon S, Zuber J (2016) Long-term CD4 lymphopenia is associated with accelerated decline of kidney allograft function. *Nephrol Dial Transplant.* 31(3):487-495
- [203] Shihab FS, Olyaei A, Wiland A, McCague K, Norman DJ (2014) Tacrolimus exposure in the real world: an analysis from the Mycophenolic acid Observational Renal transplant study. *Clin Transplant.* 28(7):768-75
- [204] Hartmann EL, Gatesman M, Roskopf-Somerville J, Stratta R, Farney A, Sundberg A (2008) Management of leukopenia in kidney and pancreas transplant recipients. *Clin Transplant.* 22(6):822-828
- [205] Brunet M, Shipkova M, van Gelder T, Wieland E, Sommerer C, Budde K, Haufroid V, Christians U, López-Hoyos M, Barten MJ, Bergan S, Picard N, Millán López O, Marquet P, Hesselink DA, Noceti O, Pawinski T, Wallemacq P, Oellerich M (2016) Barcelona

Consensus on Biomarker-Based Immunosuppressive Drugs Management in Solid Organ Transplantation. *Ther Drug Monit.* 38 Suppl 1:S1-20

- [206] Adams AB, Ford ML, Larsen CP (2016) Costimulation Blockade in Autoimmunity and Transplantation: The CD28 Pathway. *J Immunol.* 197(6):2045-2050
- [207] www.fda.gov
<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=overview.process&aplno=125288> [Zugriff am 21.01.2018]
- [208] Vincenti F, Charpentier B, Vanrenterghem Y, Rostaing L, Bresnahan B, Darji P, Massari P, Mondragon-Ramirez GA, Agarwal M, Di Russo G, Lin CS, Garg P, Larsen CP (2010) A phase III study of belatacept-based immunosuppression regimens versus cyclosporine in renal transplant recipients (BENEFIT study). *Am J Transplant.* 10(3):535-546
- [209] Durrbach A, Pestana JM, Pearson T, Vincenti F, Garcia VD, Campistol J, Rial Mdel C, Florman S, Block A, Di Russo G, Xing J, Garg P, Grinyó J (2010) A phase III study of belatacept versus cyclosporine in kidney transplants from extended criteria donors (BENEFIT-EXT study). *Am J Transplant.* 10(3):547-557
- [210] Ashokkumar C, Shapiro R, Tan H, Ningappa M, Elinoff B, Fedorek S, Sun Q, Higgs BW, Randhawa P, Humar A, Sindhi R (2011) Allospecific CD154+ T-cytotoxic memory cells identify recipients experiencing acute cellular rejection after renal transplantation. *Transplantation.* 92(4):433-8
- [211] www.plexision.com
<https://plexision.com/pleximmune-product> [Zugriff am 24.01.2018]
- [212] Sindhi R, Ashokkumar C, Higgs BW, Levy S, Soltys K, Bond G, Mazariegos G, Ranganathan S, Zeevi A (2016) Profile of the Pleximmune blood test for transplant rejection risk prediction. *Expert Rev Mol Diagn.* 16(4):387-393
- [213] Domenico TD, Joelsons G, Montenegro RM, Manfro RC (2017) Upregulation of microRNA 142-3p in the peripheral blood and urinary cells of kidney transplant recipients with post-transplant graft dysfunction. *Braz J Med Biol Res.* 50(4):e5533
- [214] Matz M, Lorkowski C, Fabritius K, Durek P, Wu K, Rudolph B, Neumayer HH, Mashreghi MF, Budde K (2016) Free microRNA levels in plasma distinguish T-cell mediated rejection from stable graft function after kidney transplantation. *Transpl Immunol.* 39:52-59
- [215] Dragun D, Müller DN, Bräsen JH, Fritsche L, Nieminen-Kelhä M, Dechend R, Kintscher U, Rudolph B, Hoebeke J, Eckert D, Mazak I, Plehm R, Schönemann C, Unger T, Budde K, Neumayer HH, Luft FC, Wallukat G (2005) Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med.* 352(6):558-569
- [216] Zhang J, Wang M, Liang J, Zhang M, Liu XH, Ma L (2017) The Presence of Anti-Angiotensin II Type-1 Receptor Antibodies Adversely Affect Kidney Graft Outcomes. *Int J Environ Res Public Health.* 14(5)
- [217] Pinelli DF, Friedewald JJ, Haarberg KMK, Radhakrishnan SL, Zitzner JR, Hanshew WE, Tambur AR (2017) Assessing the potential of angiotensin II type 1 receptor and donor specific anti-endothelial cell antibodies to predict long-term kidney graft outcome. *Hum Immunol.* 78(5-6):421-427

- [218] Nicholson JK, Lindon JC, Holmes E (1999) 'Metabonomics': understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. *Xenobiotica*. 29(11):1181-1189
- [219] Christians U, Klawitter J, Klawitter J, Brunner N, Schmitz V (2011) Biomarkers of immunosuppressant organ toxicity after transplantation: status, concepts and misconceptions. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 7(2):175-200
- [220] Cruzado JM, Melilli E (2017) Looking for the needle in the kidney transplantation haystack. *Clin Kidney J*. 10(1):95-96

7. ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL

Die Arbeit wurde im Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Klinikum Stuttgart (Olgahospital/Frauenklinik) unter der Betreuung von Professor Dr. Wieland durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch Professor Dr. Wieland und Frau Dr. Shipkova.

Die Aufklärung der Patienten und Entnahme der Blutproben erfolgte im Rahmen einer Routineuntersuchung durch Ärzte der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten. Die Aufbereitung der Proben erfolgte durch technische Assistentinnen des Zentralinstituts für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin. Die DPPIV-Aktivität wurde mittels Spektralphotometrie von Frau Eva Altröck gemessen.

Da es sich um eine Folgestudie handelte, standen mir die Stammdaten der Patienten schon zur Verfügung.

Die Erfassung der klinischen Patientendaten aus den gespeicherten Unterlagen (SAP-System) für die spätere Phase nach Nierentransplantation wurde von mir eigenständig durchgeführt, ebenso die Labordaten und die Biomarker/Immunsuppressiva. Die Informationen der Vorstudie wurden durch mich aktualisiert und ergänzt.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Anleitung durch Frau Dr. Shipkova durch mich.

Ich versichere, das Manuskript mit Unterstützung durch Professor Dr. Wieland und Frau Dr. Shipkova selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Stuttgart, den 19.02.2018

8. DANKSAGUNG

Mein herzlicher Dank gebührt meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. E. Wieland für die Überlassung des Dissertationsthemas und seiner tatkräftigen Unterstützung während der Promotionszeit.

Mein besonderer Dank gilt auch Frau Dr. M. Shipkova für die tolle Unterstützung während dieser Zeit und für die Einführung in die Welt der Statistik.

Ein weiterer Dank gilt meiner Vorgängerin Frau Dr. S. Leicht. Ohne sie wäre mein Dissertationsthema nicht zustande gekommen, und ohne sie wäre mir der Einstieg deutlich schwerer gefallen.

Vielen Dank auch an Frau Dr. G. Walz für das Suchen nach Rechtschreib- und Formatierungsfehlern im Manuskript.

Zu guter Letzt danke ich meinem Ehemann für die vielen Stunden, die er mich durch diverse "Word"-Probleme gelotst hat, und dass er mich bei Verzweiflungsausbrüchen ertragen und wieder aufgebaut hat.