

Aus dem Charité Centrum 13
Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Nephrologie und internistische
Intensivmedizin
Campus Virchow Klinikum
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. Ulrich Frei

Habilitationsschrift

Risikofaktoren für immunologische und nicht-immunologische Komplikationen bei dialysepflichtigen und nierentransplantierten Patienten

zur Erlangung der Venia legendi
für das Fach

Innere Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät Charité –
Universitätsmedizin Berlin

von
Dr. med. Nina Babel
geboren am 23. Juni 1971 in Odessa

Berlin, Oktober 2007

eingereicht: Oktober 2007

Dekan: Prof. Dr. med. M. Paul

1. Gutachter: Prof. Dr. E. Geissler
2. Gutachter: Prof. Dr. U. Heemann

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	2
1 Zusammenfassung.....	4
2 Einleitung.....	8
2.1 Zytokine	8
2.2 Zytokingenpolymorphismus	11
2.3 Niereninsuffizienz im Endstadium	13
2.4 Epstein-Barr-Virus (EBV)	14
2.5 Zytomegalie-Virus (CMV)	16
2.6 Komplikationen der Posttransplantationsperiode	18
2.6.1 Posttransplantationslymphome (Post Transplant Lymphoproliferative Disorder, PTLD)	18
2.6.2 Nicht-immunologische Komplikationen.....	21
3 Zielsetzung der Arbeit	24
4 Methoden und Ergebnisse eigener Studien	26
4.1 Genetische Risikofaktoren.....	26
4.1.1 Prädiktiver Wert von Zytokingenpolymorphismen für die Entwicklung einer dialysepflichtigen Niereninsuffizienz (ESRD)	26
4.1.2 Nicht-immunologischen Komplikationen und Genpolymorphismen immunregulatorischer Zytokine bei langzeitnierentransplantierten Patienten.....	27
4.1.3 Evidenzen für eine genetische Prädisposition bei der Entwicklung einer EBV-assoziierten PTLD	28
4.2 Virologische Risikofaktoren	29
4.2.1 Assoziation zwischen später akuter Transplantatabstoßung und aktiver EBV-Infektion bei langzeitnierentransplantierten Patienten	29
4.2.2 Therapie der CMV-Erkrankung mit Valganciclovir bei nierentransplantierten Patienten in der Spätphase nach Transplantation..	30
5 Diskussion	31
5.1 Genetische Risikofaktoren.....	32

5.1.1	Prädiktiver Wert von Zytokingenpolymorphismen für die Entwicklung einer dialysepflichtigen Niereninsuffizienz (ESRD)	32
5.1.2	Nicht-immunologischen Komplikationen und Genpolymorphismen immunregulatorischer Zytokine bei langzeitnierentransplantierten Patienten.....	35
5.1.3	Evidenzen für eine genetische Prädisposition bei der Entwicklung einer EBV-assoziierten PTLD	38
5.2	Virologische Risikofaktoren	41
5.2.1	Assoziation zwischen später akuter Transplantatabstoßung und aktiver EBV-Infektion bei langzeitnierentransplantierten Patienten	41
5.2.2	Therapie der CMV-Erkrankung mit Valganciclovir bei nierentransplantierten Patienten in der Spätphase nach Transplantation..	44
6	Ausblick	46
7	Literaturverzeichnis	48
8	Abkürzungsverzeichnis	55
9	Danksagung.....	56
10	Erklärung gemäß §4 Abs. 3(k) der HabOMed der Charité vom 10.01.2005	58

1 Zusammenfassung

Die terminale Niereninsuffizienz stellt ein relevantes gesundheitliches Problem dar. Aufgrund der zunehmenden Inzidenz und Prävalenz der Erkrankung und der hohen Therapiekosten steigt die wirtschaftliche Bedeutung kontinuierlich. Verfügbare Therapieoptionen sind Dialyse und Organtransplantation. Darüber hinaus ist eine hohe Komorbidität und Letalität mit dem progredienten Nierenversagen assoziiert. Im Verlauf der Nierenerkrankungen von ersten Funktionseinbußen bis hin zur terminalen Niereninsuffizienz greift eine Fülle von Faktoren in die Pathogenese ein. Es gilt als gesichert, dass hierbei akute und chronische Entzündungsprozesse eine zentrale Rolle spielen. Wesentliche Mediatoren der Entzündung sind unterschiedliche Zytokine und Chemokine. Zytokine wie TNF-alpha, IFN-gamma, TGF-beta, IL-6 und IL-10 sind stark mit der Progression der Niereninsuffizienz assoziiert und spielen eine wichtige Rolle in der Pathogenese von begleitenden Stoffwechselstörungen. Des Weiteren sind diese Mediatoren an der Entwicklung von virusassoziierten Komplikationen nach Organtransplantation beteiligt. Beispiele sind akute Zytomegalievirus (CMV)-Infektionen, CMV-(Re)Aktivierungen und die Entstehung von virusassoziierten Tumoren, wie den Epstein-Barr Virus-assoziierten Lymphomen (PTLDs).

Die vorliegende Habilitationsschrift beschäftigt sich mit der Analyse der Stärke der Zytokinexpression im Rahmen von Nierenerkrankungen. Die hier vorgestellten Forschungsarbeiten zeigen, dass die Expressionshöhe im Wesentlichen durch genetisch determinierte Polymorphismen in kodierenden und nicht-kodierenden Bereichen der Zytokingene bestimmt wird. Unter Verwendung von SSP-PCR (Sequence-Specific-

Primer-PCR) für die Genotypisierung relevanter Zytokine wurde der prädiktive Wert der Polymorphismen in kodierenden und nicht-kodierenden Regionen der IL-6-, IL-10-, TNF-alpha-, IFN-gamma- und TGF- β -Gene für folgende Erkrankungen untersucht:

- Niereninsuffizienz im Endstadium (ESRD) bedingt durch eine chronische Glomerulonephritis oder diabetische Nephropathie
- Stoffwechselstörungen einschließlich Diabetes mellitus, Hyperurik- und Hyperlipidämie als Komplikation im Verlauf von Nierentransplantationen
- EBV-assoziierte Posttransplantationslymphome (PTLD)

Wir konnten zeigen, dass Genpolymorphismen für die genannten Zytokine einen wichtigen prädiktiven Wert für die Progression der Niereninsuffizienz, begleitender Stoffwechselstörungen nach Transplantation und Posttransplantationslymphomen (PTLD) haben. So gingen spezifische TGF- β - und IL-10-Genpolymorphismen mit der Progression zur terminalen Niereninsuffizienz und der Entwicklung EBV-assoziiierter PTLDs einher. Während der IFN-gamma-Genpolymorphismus stark mit der Diagnose und dem Auftreten eines Posttransplantationsdiabetes assoziiert ist, konnte für den TGF- β -Genpolymorphismus eine Verbindung zu Hyperurikämie und Dyslipoproteinämie gezeigt werden.

Neben genetischen Faktoren beeinflussen akute und chronische virale Infektionen den Verlauf nach Transplantationen. Für das CMV konnte in früheren Arbeiten in klinisch relevanten Studien und experimentellen Modellen eine Immunpathogenese im Rahmen akuter und chronischer Nierentransplantatabstoßungen gezeigt werden. Inwieweit EBV, ebenfalls ein Vertreter der Herpesviren, in Prozesse der akuten und chronischen

Transplantatabstoßung involviert ist und diese verstärkt, war bis jetzt unklar. In unseren Studien konnten wir eindeutig zeigen, dass eine Assoziation zwischen der Reaktivierung einer latenten EBV-Infektion und der Diagnose einer akuten Transplantatabstoßung bei Langzeitnierentransplantierten besteht.

Der Einfluss einer CMV-Infektion/Reaktivierung auf den klinischen Verlauf bei Empfängern solider Organe ist seit mehreren Jahrzehnten der Gegenstand zahlreicher Studien. Nach der Einführung von Ganciclovir ist sowohl die Inzidenz akuter CMV-Infektionen im Rahmen von Primärinfektionen oder Reaktivierungen von latentem Virus als auch die Häufigkeit und Schwere daraus resultierender Komplikationen deutlich gesunken. Eine nur 6 %ige orale Bioverfügbarkeit des Präparates limitiert jedoch seine Anwendung initial unter dem Infekt auf die intravenöse Gabe, was mit einer hohen Hospitalisierungsrate, erhöhter Inzidenz von Katheterinfektionen und hohen Kosten verbunden ist. Valganciclovir, eine oral gut bioverfügbare Formulierung von Ganciclovir, ist vor einiger Zeit in den klinischen Alltag eingeführt worden. Um den Einfluss des neuen Therapeutikums auf den Verlauf nach Nierentransplantation zu validieren, initiierten wir unmittelbar nach der Zulassung des Präparates eine klinische Studie, um erstmalig in der Spätphase nach Nierentransplantation die therapeutische Wirksamkeit von Valganciclovir sowie sein Nebenwirkungsprofil zu evaluieren.

Mit den vorgelegten Arbeiten wurden klinisch relevante Fragen unter Zuhilfenahme moderner immunologischer Methoden untersucht. Dabei wurden neue Aspekte der Immunpathogenese von Begleiterkrankungen bei ESRD und nach Nierentransplantation entdeckt und beschrieben. Die gefundenen Risikomarker ergänzen das klinische

Monitoring der Patienten und erlauben deren Risikostratifizierung in Patienten mit hohem und niedrigem Risiko und können somit möglicherweise die Prognose der hier untersuchten Komplikationen durch zeitigere Interventionen verbessern.

2 Einleitung

2.1 Zytokine

Viele physiologische und pathologische Prozesse im Organismus kommen durch eine Interaktion verschiedener Zellen des Immunsystems zustande. Dieser „cross talk“ wird im Wesentlichen durch unterschiedliche Mediatoren vermittelt, wobei Zytokinen eine besondere Bedeutung zukommt. Zytokine, als immunregulatorische Glykoproteine, besitzen eine pleiotrope Wirkung und können autokrin, parakrin oder systemisch wirken. Sie werden stimulusabhängig neu synthetisiert und modulieren die Immunantwort über Quantität, Rezeptoraffinität und Redundanz. Zu den Hauptaufgaben der Zytokine gehören die Koordination von Proliferations-, Wachstums- und Differenzierungsprozessen, von Apoptose und Angiogenese sowie die Regulation und Interaktion von adaptivem und angeborenem Immunsystem.

TNF-alpha (tumor necrosis factor-alpha) ist ein potentes Zytokin mit einem breiten Spektrum proinflammatorischer Eigenschaften, da praktisch alle Körperzellen Rezeptoren für TNF-alpha tragen. Es spielt sowohl in der Regulation der Kommunikation zwischen Immunzellen (T-Zell-abhängige B-Zell-Antwort, T-Zell-Proliferation, Aktivität von NK-Zellen, Reifung dendritischer Zellen etc.) eine Rolle, greift aber auch in akute und chronische Entzündungsreaktionen nicht-immunologischer Zellen und Gewebe (Endothelaktivierung, Fibroblastenaktivität etc.) ein (Lin J et al.). Ursprünglich vermutete man die Rolle von TNF mehr in der akuten Entzündung (z.B. Sepsis) (Malleo G et al.). Jedoch haben die beeindruckenden Therapieergebnisse TNF-neutralisierender Substanzen (wie monoklonale Antikörper) bei Rheumatoidarthritis, Morbus Crohn, Colitis ulcerosa,

M. Bechterew und Psoriasis gezeigt (Asadullah et al.), dass TNF-alpha ein Schlüsselzytokin in der Pathogenese zahlreicher chronischer Immunprozesse darstellt (Di Girolamo N et al.; Kollias G et al.). Es wird vor allem von Monozyten/Makrophagen produziert und freigesetzt, obwohl auch aktivierte T- und B-Zellen sowie Mastzellen das Zytokin sezernieren können.

Die TNF-alpha Sekretion wird wesentlich durch das gegenregulative Zytokin Interleukin-10 (IL-10) gesteuert (Meisel C et al.). IL-10 defiziente Mäuse entwickeln tödlich verlaufende, TNF-alpha unterstützte Entzündungsprozesse vor allem im Darmbereich. IL-10 reguliert darüber hinaus auch die spezifische Immunantwort, wobei vor allem die T-zellvermittelte Entzündung (Th1 Reaktion mit Interferon-gamma als Schlüsselzytokin) gehemmt wird. Die therapeutische Applikation von IL-10 hat vor allem bei der Psoriasis sehr gute Ergebnisse gezeigt (Asadullah K et al.).

T-Zellen spielen neben Makrophagen eine zentrale Rolle im Unterhalt chronischer Entzündungsprozesse. Insbesondere dem proinflammatorischen Zytokin Interferon-gamma (IFN-gamma), das vor allem von Th1 (und Tc1)-Zellen sezerniert wird, kommt hierbei eine Schlüsselstellung zu. In experimentellen Nierentransplantationsmodellen konnte gezeigt werden, dass IFN-gamma defiziente Mäuse zwar eine weitestgehend unbeeinflusste akute Rejektion entwickeln konnten, nicht jedoch eine chronische Rejektion (Nagano H et al.).

Im Prozess der Fibrosierung beim chronischen Nierenversagen scheint auch Transforming-Growth-Faktor-beta (TGF- β) eine wesentliche Rolle zu spielen. TGF- β ist ein multifunktionelles Zytokin, welches die Proliferation und Differenzierung

verschiedener Zelltypen kontrolliert. Es kontrolliert wesentlich die Produktion der extrazellulären Matrix indem es z.B. die Synthese und Sekretion von Kollagen und anderen Matrixproteinen erhöht und deren Degradation durch Inhibition abbauender Enzyme hemmt (Sharma VK et al.). TGF- β hat daher eine starke profibrotische Aktivität. Andererseits hemmt es zahlreiche Immunfunktionen, was auch die Hemmung von TNF-alpha und IFN-gamma umfasst, so dass dem TGF- β eine dichotome Rolle in der Entzündungsregulation zukommt (Li MO; Massague J et al.).

Untersuchungen an transgenen TGF- β überexprimierenden Mäusen zeigten, dass der hohe Spiegel von zirkulierendem TGF- β zur renalen Fibrose und zum Verlust der Nierenfunktion führt (Sanderson N et al.). Sharma et al. konnten für die nierentransplantierte Population zeigen, dass TGF- β 1 eine wichtige Rolle in der progressiven Fibrose der Transplantatniere spielt (Sharma VK et al.). Es wird postuliert, dass TGF- β 1 ebenfalls eine Rolle in der Entstehung von malignen Tumoren einnimmt. So wurde beschrieben, dass TGF- β 1 einen positiven Einfluss auf die Zelltransformation und das Tumorwachstum von hämatologischen Tumoren ausübt (Massague J et al.). Interessanterweise stimulieren Calcineurininhibitoren, die ein essenzieller Bestandteil moderner Immunsuppression sind, die TGF- β Produktion, sodass Transplantation einen Risikofaktor der Onkogenese darstellen. Inwieweit es sich hierbei um ein Epiphänomen handelt, wird aktuell weiter erforscht (Hojo M et al.).

Die Synthese von IL-6 wird durch andere Zytokine (wie IL-1, TNF-alpha), LPS und virale Nukleinsäuren stimuliert. IL6 wird auch B-cell stimulatory factor-2 (BSF-2) oder Interferon beta-2 genannt. IL-6 spielt eine essenzielle Rolle in der Enddifferenzierung von B-Zellen zu Ig-sezernierende Zellen und kann darüber hinaus die Entstehung von

Plasmazytomen fördern. Daneben stimuliert das Zytokin die Differenzierung der Nervenzellen sowie die Synthese von Akutphase-Proteinen in der Leber. Über eine Aktivitätssteigerung von nativen Killerzellen und Differenzierung von zytotoxischen Killerzellen steigert IL 6 die Effektivität von Immunantworten (Kishimoto T).

2.2 Zytokingenpolymorphismus

Das immunologische Kommunikationsnetzwerk ist sehr komplex reguliert. Die aus der Summe der löslichen und zellgebundenen Signale entstehende Immunantwort ist daher multifaktoriell. Dennoch kann die Menge von aktiven einzelnen Zytokinen die immunologische Antwort beeinflussen. Die Expression von Zytokinen hängt zum einen von der Art und Dauer des Triggers ab. Die Expressionshöhe nach der Aktivierung wird aber wesentlich durch den genetischen Background moduliert. Neuere Untersuchungen haben gezeigt, dass die Höhe der Zytokinexpression genetisch determiniert ist (Vandenbroeck Ket al.). Diese genetische Prädisposition wird meistens durch Einzelnukleotid-polymorphismen (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) in kodierenden und nicht-kodierenden Regionen der Zytokingene verursacht. Diese Polymorphismen können Expressionshöhe und Halbwertszeit von Zytokinen stark beeinflussen.

Mutationen innerhalb einer kodierenden Region sind eher selten, da sie häufig zu Proteinstrukturänderungen und damit zum Verlust oder zur Funktionsänderung des exprimierten Proteins führen. Häufiger sind Mutationen in nicht-kodierenden Regionen, die zwar die Aminosäuresequenz nicht beeinträchtigen, aber die Proteinexpression auf verschiedenste Art und Weise beeinflussen können. Beispiele hierfür sind:

- verändertes mRNA-Splicing, was mRNA-Stabilität und Gentranslationsniveau beeinflussen kann
- verändertes Bindungsverhalten von Transkriptionsfaktoren durch Mutationen innerhalb des Promoters oder veränderte Enhancer- bzw. Silencer-Struktur, was die Gentranskription beeinflussen kann

Durch Untersuchungen verschiedener Arbeitsgruppen sind zum heutigen Zeitpunkt Genpolymorphismen für fast alle bekannten Zytokine identifiziert. Die Rationale für Untersuchung von Genpolymorphismen liegt dabei in folgenden Punkten:

- Verbesserung des Verständnisses der Ätiologie und Pathogenese humaner Erkrankungen
- Identifizierung potenzieller Risikofaktoren für die Entstehung und den klinischen Ausgang verschiedener Krankheiten
- Identifizierung potenzieller Marker für „Response versus Non-Response“ in therapeutischen Studien
- Identifizierung von potenziellen Targets für therapeutische Interventionen
- Identifizierung neuer therapeutischer Strategien für die Erkrankungsprävention.

Einer der meist übersehenen Aspekte solcher Studien besteht darin, dass der Komplexität der Zytokinnetzwerkstruktur und den interaktiven Kaskaden von Genaktivierungen bzw. Gensuppressionen in der Bewertung der Ergebnisse nicht ausreichend Rechnung getragen wird. Die individuellen Assoziationen können in vielen Fällen nicht informativ sein, während die Kombination verschiedener Zytokingenotypen die Erkrankungsanfälligkeit und den klinischen Ausgang einer Krankheit oft viel besser vorhersagen kann. Daher

ergibt die komplexe Analyse relevanter Zytokingenpolymorphismen mehr Sinn als die Betrachtung von Einzelgenen. Dies erfordert aber auch größere Fallzahlen für eine statistische Auswertung von prädiktiven Studien, da die Zahl der zu betrachtenden Subgruppen steigt.

Eine Vielzahl von Publikationen zeigt einen Zusammenhang zwischen Polymorphismen und dem Verlauf von unerwünschten Entzündungsreaktionen und Infektionen (Vandenbroeck K et al., Purdue MP et al.). Sie tragen zum besseren Verständnis von Krankheitsverläufen bei, sind aber bisher ohne therapeutische Konsequenz. Inwieweit Genpolymorphismen bedeutsam bei klinisch relevanten nicht-immunologischen Komplikationen sein können, wurde bis jetzt nicht detailliert untersucht, obwohl sich Hinweise mehren, dass auch hier Entzündungsprozesse pathogenetisch relevant sind.

2.3 Niereninsuffizienz im Endstadium

Die Niereninsuffizienz im Endstadium (End Stage Renal Disease, ESRD) stellt ein großes gesundheitsökonomisches Problem dar, da sie mit einer hohen Inzidenz an Komorbiditäten assoziiert ist und Dialyse und Nierentransplantation sehr kostenintensive Therapieoptionen sind. Das verbesserte Management der Dialysepatienten führt zu einer deutlich verbesserten Lebenserwartung der Patienten mit ESRD. Die permanent steigende Zahl zu behandelnder Patienten mit ESRD ist zum einen das Resultat der steigenden Inzidenzen und zum anderen des wachsenden Missverhältnisses zwischen der Patientenzahl auf der Warteliste und dem Spenderorganangebot.

Die ESRD kann durch eine Reihe unterschiedlicher Erkrankungen hervorgerufen werden, wobei Hypertension, Diabetes mellitus und chronisch glomeruläre Erkrankungen mit

einer Häufigkeit von ca. 80 % die wichtigsten Risikofaktoren darstellen (Freedman B). Während bei einigen Patienten mit Bluthochdruck, Diabetes oder chronischen Glomerulonephritiden die Nierenfunktion über Jahre im normalen bzw. kompensierten Bereich stabil bleibt, kommt es bei anderen Patienten zur progredienten Entwicklung eines chronischen Nierenversagens. Dies ist sicherlich ein multifaktorielles Geschehen, wobei der Einfluss von Zytokingenpolymorphismen auf die Progression der Entwicklung einer terminalen Niereninsuffizienz wenig untersucht ist. Mehrere Untersucher berichteten über eine erhöhte Sekretion/Aktivität unterschiedlicher Zytokine bei Patienten mit akutem und chronischem Nierenversagen (Syrjanen J et al.; Masutani K et al, Cartwright NH et al). Es wurde postuliert, dass Inflammation und daraus bedingte Fibrose zur Entwicklung eines Nierenversagens führen kann.

2.4 Epstein-Barr-Virus (EBV)

EBV ist ein DNA-Virus, gehört zur Subfamilie Gammaherpesviridae und ist der einzige humane Vertreter dieser Gruppe. Das Genom des EBV umfasst bei einer Gesamtlänge von ca. 170 kb etwa 100 darauf kodierte Gene, die für Polypeptide kodieren, die in der Mehrzahl mit Nicht-Strukturproteinen assoziiert sind und zahlreiche Funktionen haben.

Das erste Ziel für EBV im menschlichen Organismus stellen periphere Epithelzellen in den Tonsillen dar (Wolf et al., 1984). Hier vermehrt sich das Virus lytisch, tritt dann in die Blutzirkulation über und infiziert anschließend seine eigentlichen Zielzellen, die B-Lymphozyten.

Eine herausragende Eigenschaft des EBV besteht darin, dass das Virus über zwei unterschiedliche Proliferationsformen verfügt: eine lytische (produktive) und eine latente

EBV-Proliferation. Im Gegensatz zu einer lytischen EBV-Vermehrung, in welcher es unter dem Einfluß unterschiedlicher viraler Enzyme zur Produktion neuer viraler Partikeln kommt, deren Freisetzung aus der Zelle mit der Zerstörung der Wirtszelle einhergeht, erfolgt die latente EBV-Replikation zusammen mit der Wirtszelle: bei jeder Zellteilung wird EBV an die beiden Tochterzellen weitergegeben.

Die bei kleinen Kindern klinisch inapparente primäre Infektion mit EBV führt bei Jugendlichen und Erwachsenen zur Auslösung klassischer Symptome der primären EBV-Infektion, die als infektiöse Mononukleose (IM) bekannt ist.

Darüber hinaus löst EBV bei Patienten mit X-chromosomal vererbten Gendefekten das sogenannte X-gebundene lymphoproliferative Syndrom (XLPS, Duncan-Syndrom) aus (Purtilo et al., 1982).

Weiterhin wird über einen Zusammenhang zwischen der EBV-Infektion und unterschiedlichen Autoimmunerkrankungen, wie rheumatoide Arthritis, Sjörgen-Syndrom, systemischer Lupus erythematoses, berichtet (Kochanowski et al., 1996).

Unstrittig ist auch die Rolle des EBV bei der Entstehung maligner Erkrankungen. Das Virus wird in Zusammenhang mit der Entstehung von Nasopharynxkarzinom, Burkitt-Lymphom, Morbus Hodgkin und Haarzell-Leukoplakie bei AIDS-Patienten gebracht (Nalesnik MA et al.).

Des Weiteren werden zunehmend mehr Arbeiten publiziert, die über Aspekte der Immunpathogenese von EBV bei chronisch immunsupprimierten Patienten nach Organtransplantation berichten. So kommt es infolge einer gestörten Ballanz zwischen EBV-Proliferation und adäquater EBV spezifischer Immunantwort zur Entstehung EBV-assoziiierter Lymphoproliferationen unterschiedlicher klinischer und histologischer

Graduierungen bis zum Vollbild eines EBV-assoziierten Lymphoms post transplantationem (PTLD) (Jabs WI et al., Naelsnik MA et al.).

2.5 Zytomegalie-Virus (CMV)

CMV ist ein ubiquitäres doppelsträngiges DNA-Virus und gehört wie EBV zur Familie der Herpesviridae. Ca. 60-70 % der erwachsenen Bevölkerung sind asymptomatische CMV-Träger. CMV führt selten zu einer Erkrankung in der immunkompetenten Population. Bei transplantierten Patienten hingegen kann die CMV-Infektion aufgrund der Immunsuppression zu schweren Erkrankungen mit teilweise letalem Ausgang führen. Die Inzidenz der CMV-Infektion post transplantationem variiert zwischen 23 % und 85 %, wobei ca. die Hälfte dieser Patienten klinische Krankheitszeichen entwickeln (Weng FL et al.). Die publizierten Raten der CMV-Infektion sind von unterschiedlichen Faktoren einschließlich des serologischen Spender- und Empfänger-CMV-Status, der Netto-Immunsuppression, der CMV-Prophylaxe und vor allem der benutzten Testsysteme und ihrer diagnostischen Sensitivität und Spezifität abhängig. Im Allgemeinen treten die CMV-Infektionen als CMV-(Re)Aktivierung bei transplantierten Patienten viel häufiger auf, als es bisher angenommen wird.

CMV-Infektion manifestiert sich klinisch durch Fieber, Mononukleose-ähnliche Symptome, Veränderungen im Blutbild sowie eine Entzündung des infizierten Organs (sog. „-itis“: Hepatitis, Pneumonitis, Gastroenteritis, Retinitis, Enzephalitis...). Zum anderen vermittelt das Virus eine virusassoziierte „Immunsuppression“, was sich klinisch in mykotischen und bakteriellen Superinfektionen widerspiegelt und auch zur

Reaktivierung und Koexpression anderer latenter Viren (z.B. EBV, HSV, VZV u.a.) führt.

Schließlich kann die CMV-Infektion akute und/oder chronische Transplantatschäden verursachen. Es wird heute über einen direkten und indirekten Schädigungsmechanismus diskutiert.

Für die Therapie einer CMV-Infektion sind heute 3 Wirkstoffklassen der Virostatika zugelassen: Ganciclovir, Foscarnir und Cidofovir. Alle 3 Substanzen inhibieren die Synthese der CMV-DNA durch eine Hemmung der viralen DNA-Polymerase. Die meisten Erfahrungen bestehen mit Ganciclovir (Babel et al., Wenig et al.). Das Medikament ist die „Therapie der Wahl“ bei aktiven CMV-Infektion. Bei der Therapie einer CMV-Infektion können 3 Strategien unterschieden werden:

- Therapie einer manifesten CMV-Infektion;
- präemptive CMV-Therapie (siehe unten) und
- prophylaktische Therapie aller Risikopatienten (z.B. bei CMV-Mismatch-Status: Donor+/Rezipient-, OKT-3- und ATG-Therapie)

Die präemptive Therapie findet in den letzten Jahren eine zunehmende Verbreiterung. Im klinischen Management von Transplantationspatienten. Eine präemptive Therapie beinhaltet den Einsatz antiviraler Medikamente erst nach einem Nachweis einer Antigenämie, d.h. vor der klinischen Manifestation der aktiven Infektion. Einer der Gründe für die vermehrte Anwendung präemptiver Therapiekonzepte sind verbesserte Nachweismethoden, wie die quantitative Bestimmung der Viruslast mittels Real-Time PCR. Dagegen erfolgt die prophylaktische antivirale Therapie bei ausgewählten Risikopatienten (CMV-Mismatch-Status: Donor+/Rezipient-; OKT-3- und ATG-

Therapie) unabhängig vom aktuellen Nachweis einer aktiven Virusreplikation oder CMV-Antigenämie.

Wenn es zu entscheiden gilt, ob der Prophylaxe oder der präemptiven Therapie den Vorzug zu geben ist, müssen verschiedene Aspekte gegeneinander abgewogen werden:

1. klinischer Nutzen vs. Medikamentennebenwirkungen infolge „Übertherapie“
2. Medikamentenkosten, die im Rahmen der Behandlung aller Risikopatienten anfallen, vs. Diagnostikkosten, die durch die frequenten Virusnachweise im Rahmen der präemptiven Therapie anfallen
3. Aktivierungshäufigkeit unter der Prophylaxe vs. präemptiver Therapie
4. Entwicklung von Ganciclovirresistenzen durch breite Anwendung in der Prophylaxe

Welche der beiden Optionen das beste Nutzen/Risiko/Kosten-Verhältnis für transplantierte Patienten darstellt, ist gegenwärtig Gegenstand kontroverser Diskussion und vieler prospektiver und retrospektiver Studien.

2.6 Komplikationen der Posttransplantationsperiode

2.6.1 Posttransplantationslymphome (Post Transplant Lymphoproliferative Disorder, PTLD)

Es ist klar belegt, dass Patienten nach Organtransplantationen gegenüber altersgematchten Gesunden ein erhöhtes Risiko haben, an Tumoren zu erkranken (60-100-fach) (Hanto DW). Prominent unter diesen Tumorerkrankungen sind lymphoproliferative Erkrankungen (ca. 350-fach höheres Risiko als die Normalpopulation) (Hanto DW). Die lymphoproliferative Erkrankung post transplantationem (posttransplant lymphoproliferative disease, PTLD) ist eine gefürchtete

Komplikation. Die Mortalität liegt im Allgemeinen zwischen 40 und 60 %, wobei die Inzidenz des Transplantatversagens im Durchschnitt 60 % beträgt (Swinnen LJ et al.).

Die Erkrankungsinzidenz variiert in Abhängigkeit des transplantierten Organs. Unter den Empfängern solider Organe sind Leber- und Herztransplantierte am häufigsten betroffen.

Die durchschnittliche PTLD-Inzidenz bei Nierentransplantatempfängern liegt deutlich niedriger und beträgt zwischen 0,6 und 2,5 % (Trappe R et al.).

Eine Reihe von Studien zeigte eine Assoziation zwischen PTLD und primärer EBV-Infektionen nach Transplantation bzw. EBV-Reaktivierungen. Insbesondere Patienten mit einer EBV-Primärinfektion scheinen ein besonders hohes Erkrankungsrisiko für eine frühe PTLD (PTLD-Entwicklung innerhalb der ersten 3 Jahre nach Transplantation) zu haben. Kofaktoren sind dabei die Höhe der Nettoimmunsuppression und Induktions- und/oder Rejektionstherapien mit T-Zelldepletierenden Regimen wie OKT-3 oder ATG mAk (Cockfield SM; Curtis RE). Sogenannte späte PTLD (Entstehung der Lymphome bei Patienten nach dem 3. Transplantationsjahr) stellen eine immunologisch anders regulierte und klinisch anders verlaufende weitere Gruppe der Posttransplantationslymphome dar. Ähnlich wie bei früher PTLD haben Patienten mit später PTLD meistens eine erhöhte EBV Viruslast im Blut. Jedoch entwickeln nur einige Patienten mit hoher EBV Viruslast in der Früh- oder Spätphase nach Transplantation eine PTLD. Die Definition von Risikofaktoren würde das Monitoring erleichtern und evtl. eine präemptive antivirale Therapie gezielter ermöglichen.

Eine wichtige Rolle in der Kontrolle einer EBV-Infektion nimmt die zelluläre Immunantwort ein. Der Ausgang einer EBV-Infektion, genau wie bei anderen

Infektionen, wird durch die Balance von pro- und anti-inflammatorischer Zytokine maßgeblich beeinflusst.

Zytokine wie IL-10, TGF- β , IFN-gamma und TNF-alpha spielen in der Kontrolle von Viruserkrankungen eine große Rolle. Insbesondere IFN-gamma und TNF-alpha sind die Schlüsselzytokine einer nicht-zytotoxischen Hemmung der viralen Replikation in infizierten Zellen, vor allem durch Hemmung viraler Promotoren. IL-10 wiederum hemmt die Produktion der antiviralen Zytokine und stimuliert das Wachstum von B-Zellen, so auch von EBV-infizierten bzw. transformierten B-Zellen (Beatty PR et al.). Erhöhte IL-10-Spiegel konnten sowohl bei Patienten mit Hodgkin-Lymphomen als auch mit PTLD nachgewiesen werden. Es konnte auch gezeigt werden, dass EBV selbst für eine erhöhte Sekretion von IL-10 bei Patienten mit B-Zell-Lymphomen verantwortlich sein kann (Birkeland SA et al.).

Die vergleichende Analyse der DNA hat eine Homologie der zellulären IL-10 cDNA mit einem Genprodukt, das während der lytischen Phase der EBV-Infektion in B-Zellen produziert wird, ergeben (Birkeland SA et al.). Weitere Untersuchungen zeigten, dass virales IL-10 ähnliche biologische Wirkungsweisen wie humanes IL-10 (Hemmung der zellulären Immunantwort, Stimulation der Proliferation von B-Zellen etc.) besitzt (Hsu DH et al.).

Diese Daten unterstreichen, dass Zytokine eine zentrale Rolle in der Pathogenese der genannten Erkrankung haben und genetische Polymorphismen, die die Expressionsmuster der Zytokine beeinflussen, von großer Relevanz sind.

2.6.2 Nicht-immunologische Komplikationen

Bluthochdruck, Fettstoffwechselstörungen und Diabetes erhöhen das Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen (Arteriosklerose, Durchblutungsstörungen, Herzinfarkt, Schlaganfall) und können langfristig das Transplantat schädigen und dessen Funktion beeinträchtigen. In unterschiedlichem Ausmaß sind diese Komplikationen durch Immunsuppressiva hervorgerufen oder verstärkt.

2.6.2.1 Diabetes mellitus

Diabetes mellitus nach Transplantation (PTDM) ist nicht nur mit einem erheblich verringerten Langzeittransplantat- und Patientenüberleben assoziiert, sondern steht auch im Zusammenhang mit anderen bedeutsamen Erkrankungen, die den Gesundheitszustand der Patienten langfristig beeinträchtigen. Transplantierte Patienten sind bereits einem größeren Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen ausgesetzt und der PTDM stellt hier einen zusätzlichen unabhängigen Risikofaktor dar. Daten von 11.659 Nierentransplantierten aus dem United Renal Data System zeigen, dass die Diabetesentwicklung nach einer Transplantation mit einem erhöhten Transplantatversagen und Todesrisiko assoziiert ist (Kassiske et al.).

Zu den bekannten Risikofaktoren eines PTDM gehören neben einem erhöhten BMI, einem fortgeschrittenen Patientenalter, einer HCV-Seropositivität, dem ethnischen Hintergrund (hispanische Herkunft > Afroamerikaner > Kaukasier) auch das Regime der Immunsuppression (FK 506) sowie genetische Faktoren (Familienanamnese) (Bloom RD et al., Baid S et al.). Welche genetischen Veränderungen der Entwicklung eines PTDM zugrunde liegen, ist bis jetzt nicht bekannt.

2.6.2.2 Fettstoffwechselstörungen

Atherosklerotische Veränderungen und deren Komplikationen limitieren entscheidend das Langzeitüberleben sowohl des transplantierten Organs als auch des transplantierten Patienten. In einer Studie von Ibels et al. wurde gezeigt, dass die Inzidenz eines Myokardinfarkts oder eines zerebrovaskulären Ereignisses bei transplantierten Patienten 25 bzw. 300 mal so hoch ist wie in der altersentsprechenden Normalbevölkerung (Webb A et al., Ibels LS et al.). Seit mehr als 20 Jahren gelten kardiovaskuläre Erkrankungen als Haupttodesursache bei nierentransplantierten Patienten. Des Weiteren wird seit längerer Zeit über die Rolle erhöhter Lipidparameter bei der Pathogenese und Progression chronischer Transplantatnephropathie diskutiert (Banasik M et al.). Eine Untersuchung von Patienten mit chronisch vaskulärer Transplantatrejektion zeigte signifikant höhere Cholesterol- und Triglyzeridwerte im Vergleich zu Patienten ohne Abstoßungsgeschehen (Dimeny E et al.). Inwieweit die chronische Abstoßung durch eine Aktivierung von Endothelzellen in den arteriosklerotischen Gefäßen verursacht wird, ist derzeit noch Gegenstand wissenschaftlicher Diskussionen.

Veränderungen im Lipidstoffwechsel stellen einen wesentlichen Risikofaktor für die Atherosklerose sowohl in der Normalpopulation als auch in der transplantierten Population dar. Bei transplantierten Patienten wird die Entstehung der Dyslipoproteinämie durch verschiedene Faktoren wie z.B. Immunsuppression, Glukosestoffwechsel, Nierenfunktion, Adipositas, Dauer der Dialyse, Gebrauch von β -Blockern und anderen Antihypertensiva beeinflusst (Bittar, Surdaki). Ähnlich wie in der Normalbevölkerung scheinen genetische Faktoren bei transplantierten Patienten

auch eine wichtige Rolle zu spielen. Ob hier Zytokingenpolymorphismen beteiligt sind, wurde bis jetzt nicht untersucht.

3 Zielsetzung der Arbeit

Die Zielsetzung der in dieser Habilitationsschrift zusammengefassten Arbeiten bestand in der Identifizierung virologischer und genetischer Risikofaktoren, die zur Entstehung immunologischer und nicht-immunologischer Komplikationen bei nierentransplantierten Patienten und Patienten mit einer Niereninsuffizienz prädisponieren können.

Im Einzelnen sollten folgende Teilfragen beantwortet werden:

- 1) Inwieweit lässt sich ein Zusammenhang zwischen den Polymorphismen in kodierenden und nicht-kodierenden Genomsequenzen von IL-10, TGF- β , IFN-gamma, IL-6 und TNF-alpha und nicht-immunologischen Komplikationen, wie Fettstoffwechselstörungen, Diabetes mellitus und Hyperurikämie bei nierentransplantierten Patienten erkennen?
- 2) Haben Patienten mit einer Niereninsuffizienz ein von der Normalpopulation abweichendes Polymorphismusmuster in den genannten Zytokingenen, was sie unter dem Einfluss von Entzündungsauslösern (Diabetes, Hochdruck, GN) zur Progression eines terminalen Nierenversagens prädisponiert?
- 3) Gibt es eine genetische Prädisposition zur Entwicklung von EBV-assoziierten Lymphomen bei Patienten nach Organtransplantation (PTLD), die sich durch Einzelnukleotidpolymorphismen in Genomen pro- und antiinflammatorischer Zytokine auszeichnen?
- 4) Kann eine EBV-Reaktivierung im späten Verlauf nach einer Nierentransplantation zur akuten Rejektion des Transplantates führen?

- 5) Lässt sich eine symptomatische CMV-Infektion durch orale Gabe von Valganciclovir adäquat behandeln? Und wenn ja, ist die therapeutische Effizienz sowie das Nebenwirkungsprofil/Sicherheit mit denen der intravenösen Ganciclovirtherapie vergleichbar?

Die Definierung von Risikokonstellationen soll das klinische Monitoring der Patienten verbessern und somit die Behandlung der genannten Komplikationen durch zeitige Interventionen optimieren.

Die Beantwortung dieser Fragestellungen gibt darüber hinaus Einblicke in die Pathogenese der oben genannten immunologischen und nicht-immunologischen Komplikationen erlauben.

4 Methoden und Ergebnisse eigener Studien

4.1 Genetische Risikofaktoren

4.1.1 Prädiktiver Wert von Zytokingenpolymorphismen für die Entwicklung einer dialysepflichtigen Niereninsuffizienz (ESRD)

Fragestellung der Arbeit:

Haben Patienten mit einer Niereninsuffizienz ein von der Normalpopulation abweichendes Polymorphismusmuster in den genannten Zytokingenen, was sie unter dem Einfluss von Entzündungsauslösern (Diabetes, Hochdruck, GN) zur Progression eines terminalen Nierenversagens prädisponiert?

Predictive value of cytokine gene polymorphisms for the development of end-stage renal disease. Babel N, Gabdrakhmanova L, Hammer M et al. J Nephrol. 2006; 19: 802-07

4.1.2 Nicht-immunologischen Komplikationen und Genpolymorphismen immunregulatorischer Zytokine bei langzeitnierentransplantierten Patienten

Fragestellung der Arbeit:

Inwieweit lässt sich ein Zusammenhang zwischen den Polymorphismen in kodierenden und nicht-kodierenden Sequenzen von IL-10, TGF- β , IFN-gamma, IL-6 und TNF-alpha und nicht-immunologischen Komplikationen wie Fettstoffwechselstörungen, Diabetes mellitus und Hyperurikämie bei nierentransplantierten Patienten erkennen?

Nonimmunologic complications and gene polymorphisms of immunoregulatory cytokines in long-term renal transplants. Babel N, Cherepnev G, Kowalenko A et al. Kidney Int. 2004;66:428-32

4.1.3 Evidenzen für eine genetische Prädisposition bei der Entwicklung einer EBV-assoziierten PTLD

Fragestellung der Arbeit:

Gibt es eine genetische Prädisposition zur Entwicklung von EBV-assoziierten Lymphomen bei Patienten nach einer Organtransplantation (PTLD), die sich durch Einzelnukleotidpolymorphismen in Genomen pro- und antiinflammatorischer Zytokine auszeichnen?

Evidence for genetic susceptibility towards development of post transplant lymphoproliferative disorder (PTLD) in solid organ recipients. Babel N, Vergopoulos A, Trappe R. et al. Transplantation 2007, 84: 387-91

4.1.4 Assoziation zwischen später akuter Transplantatabstoßung und aktiver EBV-Infektion bei langzeitnierentransplantierten Patienten

Fragestellung der Arbeit:

Kann eine EBV-Reaktivierung im späten Verlauf nach einer Nierentransplantation zur akuten Rejektion des Transplantates führen?

Association between EBV infection and late acute transplant rejection in long-term transplant patients. Babel N, Schwarzmann F, Prang N, Jaeger M, Wolf H, Kern F, Volk HD, Reinke P. Transplantation, 2001;72:736-39

4.1.5 Therapie der CMV-Erkrankung mit Valganciclovir bei nierentransplantierten Patienten in der Spätphase nach Transplantation

Fragestellung der Arbeit:

Lässt sich eine symptomatische CMV-Infektion durch orale Gabe von Valganciclovir adäquat behandeln? Und wenn ja, ist die therapeutische Effizienz sowie das Nebenwirkungsprofil/Sicherheit mit denen der intravenösen Ganciclovirtherapie vergleichbar?

**Treatment of cytomegalovirus disease with valganciclovir in renal transplant recipients.
Babel N, Gabdrakhmanova L, Juergensen JS et al. Transplantation. 2004;78:283-5**

5 Diskussion

Seit ihrer klinischen Einführung vor nun mehr als 50 Jahren hat sich die Organtransplantation zu einer etablierten Therapie bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz entwickelt. Für Nierentransplantationen werden zur Zeit 1-Jahresfunktionsraten von > 90% angegeben. Mit der Implementierung der Organtransplantation als Routineverfahren in der Behandlung der Niereninsuffizienz im Endstadium haben sich jedoch gleichzeitig eine Reihe neuer Problemstellungen ergeben, wobei die unbefriedigende Langzeitfunktion nach wie vor das Hauptproblem darstellt. Die meisten Faktoren, die die Langzeitfunktion der Transplantate ungünstig beeinflussen, können in zwei Kategorien unterteilt werden: immunologische und nicht-immunologische Faktoren. Während Rejektionen, Tumore und Infektionen zu den immunologischen Komplikationen gezählt werden, gehören Hypertonie und verschiedene Stoffwechselstörungen zu den sogenannten nicht-immunologischen Komplikationen, wobei zunehmend klar wird, dass auch hier immunologisch vermittelte Entzündungsprozesse wesentlich sind.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde der prädiktive Wert ausgewählter Marker für die Entstehung definierter Komplikationen der Posttransplantationsperiode untersucht.

5.1 Genetische Risikofaktoren

5.1.1 Prädiktiver Wert von Zytokingenpolymorphismen für die Entwicklung einer dialysepflichtigen Niereninsuffizienz (ESRD)

In unserer Studie wurde die Wertigkeit der Zytokingenpolymorphismen als prädiktiver Faktor für die Entstehung bzw. Progression der Niereninsuffizienz evaluiert. An der Studie haben 103 Patienten mit Niereninsuffizienz (59 Patienten mit chronischer GN und 44 Patienten mit dem Typ II diabetischer Nephropathie) teilgenommen. Die renale Grunderkrankung wurde durch histologische Untersuchungen diagnostiziert. 118 gesunde Blutspender dienten als Kontrolle.

Wir konnten zeigen, dass TGF- β 1 (Codon 10) TT- und IL-10(-1082) GG-Genotyp ein Risikofaktor für die Entstehung der ESRD bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ II und chronischer Glomerulonephritis darstellt. Die Genotypverteilungen erfüllten die Hardy-Weinberg-Kriterien.

TGF- β ist ein profibrotisches Zytokin, dessen Überexpression eine konstante Eigenschaft der Gewebsfibrose bzw. der ESRD darstellt (Border WA et al.). Dieses Zytokin scheint außerdem eine Schlüsselrolle für die Entstehung der Glomerulosklerosis im Rahmen einer diabetischen Nephropathie zu spielen (Border WA et al., NG DP et al.). Der TGF- β -TT-Polymorphismus ist mit einer erhöhten Zytokinproduktion assoziiert. Die gefundene Assoziation zwischen TGF- β 1 (Codon 10) TT-Polymorphismus und der ESRD lässt sich daher durch eine Überproduktion des TGF- β erklären. Dies ist mit einer gesteigerten Fibroseneigung im Rahmen der Glomerulonephritis bzw. diabetischen Nephropathie korreliert.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Coll et al. Sie beschrieben eine Assoziation zwischen dem TGF- β (Codon 10 und 25)-Polymorphismus und chronischen Nierenerkrankungen, wobei der TGF- β (Codon 10) -TT-Genotyp häufiger bei Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen und kardiovaskulären Komplikationen detektiert wurde (Coll E et al.). Des Weiteren wurde kürzlich der TGF- β (Codon 10) –Genotyp als ein unabhängiger Risikofaktor für eine Nierentransplantatfunktionsverschlechterung identifiziert (Chow KM et al.).

Die Ergebnisse einer Studie von Wong et al. stehen jedoch im Widerspruch zu unseren Daten. Interessanterweise wurde in dieser Studie eine Assoziation zwischen den TGF- β (Codon 10)- CC- und –TC-Genotypen und der diabetischen Nephropathie festgestellt (Wong TYH et al.). Nach unserer Meinung lassen sich die Differenzen zum einen durch den unterschiedlichen genetischen Background und zum anderen durch den Unterschied im Studiendesign erklären. In der Studie von Wong et al. wurde als Kontrollgruppe Patienten mit seit ca. 10 Jahren bestehendem Diabetes mellitus und (noch) normaler Nierenfunktion analysiert. In unserer Studie dagegen wurden gesunde Blutspender (kein Diabetes mellitus) als Kontrollgruppe untersucht. Obwohl der Designansatz der Studie von Wong et al. der Aufklärung der Endstrecke des Pathomechanismus diabetischer Nephropathie am nächsten käme, ist eine klare Eingruppierung der Patienten in nierenkrank/nierengesund im Rahmen der o.g. Studie nicht möglich (diabetische Nephropathie kann u.U. auch 20 Jahren nach der Erstmanifestation eines Diabetes mellitus auftreten). Die unzureichende Diskriminierung der Patienten könnte somit zu einer ungleichen Gewichtung (Bias) führen, die sich in den unterschiedlichen Ergebnissen widerspiegelt.

Weiterhin wurde eine erhöhte Inzidenz des -1082-IL-10-GG-Polymorphismus bei Patienten mit ESRD identifiziert. Dies war sowohl für die GN- als auch die Diabetes mellitus Patienten der Fall. In Anbetracht der anti-inflammatorischen Eigenschaften des IL-10 sowie der Korrelation des -1082-IL-10-GG-Polymorphismus mit der erhöhten Produktionskapazität scheinen diese Daten schwer interpretierbar. Auf der anderen Seite existieren zum heutigen Zeitpunkt eine Reihe an Daten, die über eine Assoziation zwischen -1082-IL-10-GG-Polymorphismus und multiplen Rejektionsepisoden berichten (Sankaran D et al., Cartwright NH et al., Pelletier R et al.). Als eine mögliche Ursache wurde eine erhöhte HLA-Antikörperproduktion angenommen (Sankaran D et al.). Es lässt sich daher auch in unserer Studie spekulieren, dass durch den erhöhten IL-10-Spiegel bestimmte degenerative/autoimmunologische Prozesse in der Nativniere initiiert werden.

Eine Assoziation zwischen dem -1082-IL-10-GG-Genotyp und dem TGF- β 1 (Codon 10) TT-Polymorphismus als eine mögliche Erklärung der demonstrierten Assoziation zur ESRD und dem IL-10-Polymorphismus konnte durch entsprechende statistische Tests ausgeschlossen werden.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass Träger des -1082-IL-10-GG- und TGF- β 1 (Codon 10) TT-Genotyps zur Entwicklung eines Nierenversagens prädisponiert sind. Da die beiden primären Nierengrunderkrankungen (GN und diabetische Nephropathie) mit den gleichen Zytokingenpolymorphismen assoziiert sind, ist ein gemeinsamer Zytokin-getriggelter Pathomechanismus der ESRD für Diabetes mellitus und GN durchaus gut vorstellbar. Weitere experimentelle Studien, einschließlich von gut charakterisierten Tiermodellen, könnten zur weiteren Aufklärung des Pathomechanismus

der ESRD beitragen. Analyse der Genpolymorphismen bei Patienten mit Niereninsuffizienz bereits im frühen Stadium könnte außerdem helfen, Patienten mit hohem bzw. niedrigem Risiko der beschleunigten Progression einer Niereninsuffizienz zu stratifizieren. Die Stratifizierung stellt den ersten Schritt zur gezielten Behandlung dieser Patienten dar, um deren klinische Prognose in Zukunft evtl. verbessern zu können.

5.1.2 Nicht-immunologischen Komplikationen und Genpolymorphismen immunregulatorischer Zytokine bei langzeitnierentransplantierten Patienten

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Assoziation zwischen +874IFN-gamma AA Genotyp und PTDM, sowie TGF- β 1(Codon 25) GG-Genotyp und sowohl Hyperurikämie als auch Dyslipoproteinämie nach einer Nierentransplantation demonstriert. Die gefundenen Assoziationen stellen jeweils unabhängige Risikofaktoren dar, da eine multivariante Analyse (ANOVA) keine Korrelation mit solchen Faktoren wie Transplantatalter, renale Grunderkrankung und Organart (Lebend- versus Leichenspende) erbracht hat. Ein Bias in der immunsuppressiven Therapie konnte ebenfalls ausgeschlossen werden. Es ist allgemein anerkannt, dass Tacrolimus-behandelte Patienten ein höheres Risiko für die Entstehung eines PTDM haben. Es wurden keine Unterschiede im therapeutischen Regime zwischen den verschiedenen Gruppen gefunden ($p > 0,05$), sodass die beschriebene Assoziation zwischen IFN-gamma-Genpolymorphismus und dem PTDM nicht Tacrolimus bezogen sein kann.

Nach unserem Wissensstand stellt unsere Arbeit die erste Studie dar, die eine positive Korrelation zwischen +874IFN- γ AA-Genotyp und dem PTDM beschreibt. Kürzlich wurde über eine Assoziation zwischen Typ I DM und 12-CA-repeat-Allel im Intron des IFN- γ -Gens berichtet (Tegoshi H et al.). Interessanterweise gibt es eine Korrelation zwischen 12-CA-repeat-Allel und dem Auftreten des T-Allels an der Position +874, was mit der putativen NF- κ B-Bindungsseite koinzidiert und die konstitutiv hohe IFN- γ -Produktion verursacht. Der +874IFN- γ TT-Genotyp ist daher mit einer höheren IFN- γ -Produktion assoziiert.

Zur Erklärung der gefundenen Assoziation zwischen PTDM und +874IFN- γ AA-Genotyp wurde folgende Hypothese angenommen:

Die Typ I DM und Typ II DM fördernden Effekte des +874TT- und +874AA-Genotyps haben anscheinend zwei gegensätzliche Erscheinungsbilder des +874IFN- γ -Genpolymorphismus (the Yin and the Yang). Die +874TT-“high-producer” generieren mehr IFN- γ als die Patienten mit +874AA-Genotyp, dem eine niedrige IFN- γ -Produktion zugeschrieben wird. Somit trägt die Höhe der IFN- γ -Expression/Sekretion unterschiedlich zur Pathogenese des Typs I und Typs II DM bei. Während der prädominante Mechanismus des Typs I DM aus einem IFN- γ vermitteltem β -Zell-gerichteten zytotoxischen Effekt besteht, soll die Prädisposition zum Typ II Diabetes mellitus einer niedrigen IFN- γ -Produktion zugrunde liegen. Hypothetisch gesehen führt der mangelnde Effekt des IFN- γ zum:

- i)* Mangelnden metabolischen Effekt auf die β -Zellen
- ii)* Mangelnden insulinabhängigen Glukoseaufnahme in die Zielzellen

Für die weitere Aufklärung, ob die aberrante IFN- γ -Expression zum abnormalen Glukose-Turnover führt, ist ein experimenteller Ansatz mit IFN- γ knock-out Mäusen erforderlich.

Nach unserem Kenntnisstand ist es die erste Beschreibung der positiven Assoziation zwischen PTDM und IFN-gamma-Genpolymorphismus.

Des Weiteren wurde in der Arbeit eine Assoziation zwischen dem TGF- β 1 GG-Polymorphismus mit sowohl Hyperurikämie als auch Hyperlipoproteinämie festgestellt. Da TGF- β 1 GG-Genotyp mit einer erhöhten TGF- β -Produktion korreliert, haben Patienten mit GG-Polymorphismus ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer Hyperurikämie bzw. Hyperlipidämie. Übereinstimmend mit unseren Daten wurde eine erhöhte TGF- β -Expression bei Patienten mit hohem BMI (body mass index) festgestellt, eine Beobachtung, die für einen klaren Link zwischen Lipidmetabolismus und TGF- β 1-Produktion spricht (Alessi MC et al.). Darüber hinaus führt eine TGF- β 1-Langzeitexposition zur Suppression der Leptinproduktion im Fettgewebe, ein Phänomen, das bei der Insulinresistenz und in genetisch adipösen Mäusen beschrieben wurde (Gottschling-Zeller et al.).

Eine Überproduktion von TGF- β führte in einigen Tiermodellen zu multiplen Gewebeläsionen. Es ist daher durchaus denkbar, dass die sekundäre Hyperurikämie bei TGF- β -Hochproduzieren durch eine TGF- β -abhängige Gewebedestruktion zustande kommt.

Zusammenfassend zeigen unsere Daten, dass SNP-determinierte Variationen in der IFN-gamma- und TGF- β -Sekretionskapazität eine wichtige Bedeutung in der Entstehung

nicht-immunologischer Komplikationen der Posttransplantationsperiode haben. Analysen der o.g. Zytokinpolymorphismen könnten daher helfen, bereits vor der Transplantation Risikopatienten zu identifizieren und somit der Stoffwechselstörungen nach der Transplantation durch entsprechendes Monitoring bzw. entsprechende Anpassung der Immunsuppression vorzubeugen.

5.1.3 Evidenzen für eine genetische Prädisposition bei der Entwicklung einer EBV-assoziierten PTLD

Im Rahmen dieser Studie wurde der Einfluss der Polymorphismen pro- und antiinflammatorischer Zytokine auf die Entstehung EBV-assoziiierter PTLD bei 38 PTLD Patienten im Vergleich zu 408 nierentransplantierten Patienten untersucht. Die Diagnose PTLD wurde durch histologische Goldstandarduntersuchungen verifiziert und klassifiziert. Die meisten Patienten konnten in die Gruppe der großzelligen Non-Hodgkin-Lymphome eingeordnet werden. Da das PTLD ein relativ seltenes Ereignis ist, wurde - um die statistische Power zu verbessern - die Kontrollgruppe um den Faktor 10 vergrößert. Die Kontrollgruppe bestand aus 408 altersgematchten transplantierten Patienten mit unauffälligen Blutbildern, klinisch und sonografisch keinen Zeichen eines Lymphoms und normaler Transplantatfunktion. Die Genotypverteilungen erfüllten die Hardy-Weinberg-Kriterien. Wir fanden einen signifikanten Unterschied in der Verteilung vom TGF- β 1 (Codon 25)- und IL-10-Genpolymorphismus zwischen den Patienten mit EBV-assoziiierter PTLD und der transplantierten Kontrollgruppe. Der TGF- β 1 (Codon 25) GG Genotyp wurde signifikant häufiger in der Kontrollpopulation als bei den Patienten mit PTLD festgestellt ($P=0.0022$). Für den IL-10 GG-Polymorphismus

wurde eine negative Korrelation mit der PTLD-Gruppe festgestellt. Signifikante Unterschiede in der -308TNF- α -, TGF- β 1 (Codon 10)- und +874IFN- γ -Polymorphismusverteilung zwischen Patienten mit PTLD und Kontrollen konnten nicht festgestellt werden.

Als ein pleiotropes Zytokin hat das TGF- β in der letzten Zeit eine zunehmende Aufmerksamkeit gewonnen. Das Zytokin wurde in den letzten Jahren als ein potenter Tumorsuppressor und Inhibitor der B-Zellproliferation anerkannt. (Massague J et al., Kee BL et al.). Der tumorsuppressive Effekt ist besonders in den frühen benignen Stadien ausgeprägt. Kürzlich wurde ein signifikant niedriger TGF- β -Spiegel bei Patienten mit nasopharyngealem Karzinom (CC + GC-Genotyp) im Vergleich zu gesunden Kontrollen (GG-Genotyp) demonstriert. Des Weiteren inhibiert das Zytokin die B-Zellproliferation, induziert Apoptose unreifer oder ruhender B-Zellen und blockiert die B-Zellaktivierung. Diese Daten sind somit in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen, die eine protektive Wirkung des TGF- β 1 (Codon 25) GG-Genotyps bezogen auf die PTLD-Entstehung zeigen. In Anbetracht der inhibierenden Wirkung von TGF- β auf die unkontrollierte B-Zellproliferation lässt sich annehmen, dass eine mangelnde inhibitorische Aktivität zu einer insuffizienten Kontrolle der EBV-getriggerten B-Zellproliferation bei Patienten mit PTLD führen kann.

Des Weiteren wurde in der Studie eine negative Korrelation zwischen dem IL-10-GG-Genotyp, der für eine „high response“ kodiert, und der PTLD festgestellt. Unter Berücksichtigung der Rolle von IL-10 in der Lymphomentstehung, einschließlich EBV-assoziiertes PTLD (Muti G et al.), lässt sich die demonstrierte Korrelation schwer erklären.

Auf der anderen Seite ist es gut belegt, dass IL-10 die humorale Antwort verstärkt, was in einer Zunahme der Antikörperbildung resultiert (Rosset F et al.). Wir können daher postulieren, dass durch die erhöhte IL-10-Produktion mit konsekutiver Zunahme der Antikörperbildung einer EBV-Reaktivierung entgegengewirkt wird und diese besser kontrolliert werden kann. Zusätzlich kontrolliert IL-10 die Lymphozyten- und Makrophagen- produzierte IL-6-Sekretion. Eine erhöhte IL-10-Sekretion inhibiert die Produktion von IL-6, das einen wichtigen Proliferationsfaktor der B-Zellen darstellt und somit protektiven bezüglich der Lymphomentstehung sein kann.

Ein Linkage zwischen dem -1082-IL-10-GG-Genotyp und TGF- β 1 (Codon 25) GG-Polymorphismus als eine weitere mögliche Erklärung der gefunden Assoziation zwischen IL-10-Polymorphismus und PTLD konnte durch entsprechende statistische Tests ausgeschlossen werden.

Unsere Ergebnisse stimmen mit den Daten 2 weiterer „case-control“ Studien überein, die an großen Kohorten nicht-transplantierte Patienten mit und ohne Non-Hodgkin-Lymphomen durchgeführt wurden (Lau Q et al., Purdue MP et al.).

Zusammenfassend demonstrieren Daten unserer Studie klare Evidenzen für die wichtige Rolle der zwei Th2-Pathway-Schlüsselzytokine als Risikofaktoren für die PTLD-Entwicklung. Neben dem besseren Verständnis der Immunpathogenese der späten EBV-assoziierten PTLD bieten Ergebnisse dieser Arbeit eine Grundlage für die Risikostratifizierung transplantierte Patienten sowie der Patienten, die auf einer Transplantationswarteliste stehen.

5.2 Virologische Risikofaktoren

5.2.1 Assoziation zwischen später akuter Transplantatabstoßung und aktiver EBV-Infektion bei langzeitnierentransplantierten Patienten

Episoden akuter Rejektionen können bei transplantierten Patienten auch im späten Verlauf nach Transplantation (> 1 Jahr) diagnostiziert werden und bestimmen ganz wesentlich die Transplantatlangzeitprognose (Reinke et al., Ode-Hakim S et al.).

Während chronische Transplantatrejektionen therapeutisch kaum zu beeinflussen sind, lassen sich Episoden der späten akuten Transplantatrejektion durch Antirejektionsbehandlungen (Steroidbolus, OKT-3, ATG) im Allgemeinen adäquat therapieren. Durch frühere Untersuchungen wurde jedoch eine Patientensubgruppe definiert, die kaum oder gar nicht auf eine derartige Therapie ansprach.

Interessanterweise fand man bei diesen Patienten durch zytofluorometrische Untersuchungen eine Expansion von CD8+CD57+-Zellen, ein Phänomen, das man vor allem bei systemischer Virusinfektion beobachtet (Ode-Hakim S et al.). Daher wurde angenommen, dass es sich in dieser Gruppe um eine Reaktivierung latenter Virusinfektionen handeln könnte. In der Tat konnte man bei 82 % dieser Patienten einen positiven CMV-PCR-Befund beobachten (Kontrolle nur bei 20 % positiv) (Reinke P et al.). 17 von 21 Patienten mit dieser Konstellation sprachen sehr gut auf eine Ganciclovir-Therapie aber vergleichsweise schlecht oder gar nicht auf eine Steroidbolustherapie an. Diese Beobachtung lässt den Schluss zu, dass es sich hierbei um eine CMV-assoziierte Transplantatschädigung gehandelt haben muss.

In unserer Arbeit untersuchten wir, ob auch EBV mit der späten akuten Rejektion assoziiert ist. Dafür untersuchten wir mittels PCR eine EBV-Infektion bei 10 zufällig

selektionierten nierentransplantierten Patienten mit histologisch gesicherter später akuter Rejektion und ohne Zeichen für eine CMV- Infektion (CMV-seronegativ, CMV-APAAP und -PCR negativ) oder eine andere Infektion. Die nested PCR zum Nachweis des Early Antigen (EA), das in der Frühphase der EBV-Reaktivierung exprimiert wird, erbrachte bei 80 % der Patienten mit akuter Rejektion einen positiven Befund, während in der Kontrollgruppe die EA-mRNA-Expression nur bei 5 % nachweisbar war ($p < 0,01$).

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die späte akute Transplantatrejektion bei unseren Patienten mit einer Reaktivierung der lytischen EBV-Replikation assoziiert ist. Eine Assoziation zwischen viraler Infektion und Transplantatschädigung ist seit einiger Zeit eine weitgehend akzeptierte Tatsache. Am häufigsten wird über eine Beteiligung der CMV-Infektion am Prozess der Transplantatschädigung berichtet (Ode-Hakim S et al., Reinke P et al., Lautenschlager et al.), wobei eine Assoziation zwischen der Transplantatrejektion und der viralen Infektion, z.B. dem Nachweis von humanem Herpes-Virus-6 (Lautenschlager J et al) und EBV (Hornef et al.), immer häufiger beschrieben werden. So demonstrierten Hornef et al. in ihrer Studie eine Koinzidenz zwischen EBV-Reaktivierungen und Episoden der akuten Rejektion. Da aber die Zeichen einer EBV-Reaktivierung erst Tage nach dem Beginn einer Steroidbolustherapie nachweisbar waren, haben die Autoren die EBV-Reaktivierung als eine Folge der Antirejektionstherapie interpretiert. Im Gegensatz zur Studie von Hornef et al. erfolgten die Untersuchungen einer EBV-Infektion bei unseren Patienten noch vor dem Therapiebeginn, sodass die EBV-Reaktivierung bei unseren Patienten offensichtlich kein Effekt des Zusammenbruchs im Kontrollmechanismus der Virusreplikation infolge einer Antirejektionstherapie sein kann.

Es sind auch einzelne Fälle bekannt, bei denen EBV-assoziierte lymphozytäre Proliferationen disseminiert im Organismus nachweisbar sind und unter anderem auch das transplantierte Organ infiltrieren, was letztlich auch zu einer Beeinträchtigung der Transplantatfunktion führt (Randhawa P et al.). Dabei ist eine klare histologische Differenzierung zwischen akuter zellulärer Rejektion und EBV-assoziiierter lymphoproliferativer Infiltration nach Meinung einiger Autoren (Randhawa P et al.) sehr schwierig. Histologische Untersuchungen in Kombination mit speziellen EBV-Untersuchungstesten für die Differenzialdiagnose sind in diesem Rahmen sehr hilfreich. Obwohl unsere Daten keinen direkten ursächlichen Zusammenhang zwischen der EBV-Reaktivierung und einer akuten Transplantatrejektion demonstrieren, deutet die schlechte Antirejektionstherapie-Ansprechraten bei den Studienpatienten auf die kausale Beteiligung des EBV an der Funktionsverschlechterung des Transplantates hin. Ähnliche Steroidtherapie-Responseraten wurde bei Patienten mit CMV-getriggerten akuten Abstoßungen demonstriert (Reinke et al.). Interessanterweise konnte man in dieser Gruppe eine deutliche Verbesserung der Transplantatfunktion nach antiviraler Therapie mit Ganciclovir feststellen. Diese Daten machen deutlich, dass EBV ähnlich wie das CMV immunopathogenetische Prozesse im Transplantat triggern kann und daher bei Patienten mit unklaren Transplantatfunktionsverschlechterungen untersucht werden sollte. Ein ähnliches Phänomen konnten wir auch in Patienten mit aktiven Infektionen mit Polyoma Virus Typ BK (BKV) beschreiben. Hier infiltrierten BKV-spezifische T-Lymphozyten die transplantierten Nieren und führten hier zu einer lokalen Immunreaktion (Hammer et al.).

5.2.2 Therapie der CMV-Erkrankung mit Valganciclovir bei

nierentransplantierten Patienten in der Spätphase nach Transplantation

Ganciclovir (GCV) ist der Goldstandard für die Therapie und Prophylaxe einer CMV-Infektion nach Organtransplantation. Aufgrund einer niedrigen oralen Bioverfügbarkeit und Absorption ist die orale Anwendung des Präparates äußerst limitiert. Während eine intravenöse Therapie hoch effektiv ist, bedeutet diese Applikationsform höhere Ausgaben durch den längeren stationären Aufenthalt, Notwendigkeit eines intravenösen Katheters mit entsprechenden Komplikationsraten einschließlich Katheter-assoziierten Infektionen. Valganciclovir (VGC), ein Valylester-Prodrug des GCV wurde kürzlich entwickelt und bereits in einigen Studien zur Behandlung einer CMV-assoziierten Retinitis bei HIV-positiven Patienten mit Erfolg angewandt. Mit 60 % oraler Bioverfügbarkeit scheint das Medikament die gleiche Konzentration als i.v. GCV zu erreichen.

In unserer Studie wurde erstmalig für eine nierentransplantierte Population in der Spätphase nach Transplantation die Effektivität und Sicherheit der VGC-Anwendung zur Therapie einer aktiven CMV-Infektion vergleichend untersucht.

Wir konnten zeigen, dass es bei allen 21 untersuchten Patienten mit klinischen Zeichen einer CMV-Infektion innerhalb der ersten drei Woche nach der VGC-Therapieeinleitung zu einem signifikanten Abfall der CMV-Antigenämie kam. Bei keinem der Patienten kam es zum CMV-Rezidiv nach dem Absetzen vom VGC während der Nachbeobachtungszeit von 2-7 Monaten. Wir beobachteten eine Normalisierung aller mit der CMV-Infektion assoziierten klinischen Symptomen. Darüber hinaus kam es zur Verbesserung der CMV-assoziierten NTX-Funktionsverschlechterung in 8 von 9 Patienten.

Die VGC-Anwendung in unserem therapeutischen Setting zeigte sich als sicher und nebenwirkungsarm. Nur bei einem Patienten kam es zur Entwicklung einer leichten Neutropenie, ein weiterer Patient entwickelte Diarrhöe. Keine weiteren unerwünschten Ereignisse traten während oder unmittelbar nach dem Absetzen der VGC-Therapie auf. Nach der Publikation unserer Pilotstudie 2004, die nach unserem Kenntnisstand als eine der ersten über die hohe Effektivität und Sicherheit berichtet hat, sind zahlreiche weitere Studien publiziert worden. So zeigten Khoury et al., dass VGC-Therapie eine effektive Methode in der Prävention einer symptomatischen CMV-Infektion bei nierentransplantierten Patienten darstellt (Khoury JA et al.). Des Weiteren demonstrierten Weng et al. in einer großen retrospektiven Analyse von 500 nierentransplantierten Patienten eine ähnliche Effektivität des VGC im Vergleich zum GCV in der frühen Prophylaxe einer CMV-Infektion (Weng FL et al.).

Das Nebenwirkungsprofil scheint ähnlich dem der GCV-Therapie zu sein. So präsentierten Lopau et al., dass im Rahmen einer präemptiven CMV-Therapie mit VGC ähnliche unerwünschte Ereignisse auftreten wie bei einer i.v. GCV-Therapie. Die Effizienz der beiden Protokolle schien ebenfalls vergleichbar zu sein (Lopau K et al.).

Zusammenfassend öffnet VGC neue - leider noch sehr kostenintensive - Optionen für Therapie und Prophylaxe einer symptomatischen CMV-Infektion.

6 Ausblick

In Rahmen der vorliegenden Arbeiten wurden einige genetische Risikomarker für die Entstehung definierter immunologischer und nicht-immunologischer Komplikationen bei dialysepflichtigen und nierentransplantierten Patienten identifiziert. Es konnte gezeigt werden, dass die Technologie des genetischen Mappings zum Nachweis von Genpolymorphismen unterschiedlichster Zytokine und somit zu einer Risikostratifizierung der Patienten geeignet ist. Unmittelbare klinische Konsequenzen sind jedoch bis jetzt davon nicht abgeleitet worden.

In den geplanten prospektiven Studien soll daher geprüft werden, ob die Individualisierung der Immunsuppression zur Minimierung von Nebenwirkungen (bei optimaler Transplantatfunktion) auf der Basis genetisch determinierter Genpolymorphismen möglich ist.

Der Einfluss von TGF- β 1 und IL-10 sowie deren Genpolymorphismen auf die Entwicklung der GN- sowie Diabetes mellitus-bedingten Niereninsuffizienz könnte durch weitere experimentelle Studien untersucht werden. Gut charakterisierte Tiermodelle könnten zur weiteren Aufklärung derartiges Pathomechanismus der ESRD beitragen.

Des Weiteren streben wir an, die Technologie des genetischen Mappings zu verfeinern. Die bis vor kurzem für den Polymorphismus-Nachweis angewandten Methoden erlaubten die Analyse einer sehr limitierten Anzahl von Markern, während die Wahrscheinlichkeit des Einflusses anderer bis jetzt nicht untersuchter Polymorphismen bzw. deren Kombination relativ hoch ist.

Kürzlich wurde eine neue Technik zum simultanen Nachweis des Polymorphismussets des ganzen Genoms entwickelt. Der High-density Oligonukleotidarray zur Analyse der Einzelnukleotidpolymorphismen erlaubt einen Kosten-effektiven gleichzeitigen Nachweis eines Sets von ca. 1 Mio. Einzelnukleotidpolymorphismen des gesamten Genoms.

Die Anwendung dieser Technik in großen gut stratifizierten Patientenpopulationen würde die Identifizierung neuer diagnostischer sowie therapeutischer Marker erlauben und könnte zum verbesserten Verständnis vieler unerwünschter Ereignisse beitragen.

7 Literaturverzeichnis

Akalin E, Murphy B.

Gene polymorphisms and transplantation.
Curr Opin Immunol 2001; 13: 572-76

Alessi MC, Bastelica D, Morange P. et al.

Plasminogen activator inhibitor 1, transforming growth factor-beta1, and BMI are closely associated in human adipose tissue during morbid obesity.
Diabetes 2000; 49: 1374-1380

Asadullah K, Friedrich M, Hanneken S et al.

Effects of systemic interleukin-10 therapy on psoriatic skin lesions: histologic, immunohistologic, and molecular biology findings.
J Invest Dermatol 2001; 116: 721-27

Asderakis A, Sankaran D, Dyer P et al.

Association of polymorphisms in the human interferon-gamma and interleukin-10 gene with acute and chronic kidney transplant outcome: the cytokine effect on transplantation.
Transplantation 2001; 71: 674-77

Baid S, Cosimi AB, Farrell ML et al.

Posttransplant diabetes mellitus in liver transplant recipients: risk factors, temporal relationship with hepatitis C virus allograft hepatitis, and impact on mortality.
Transplantation 2001; 72: 1066-1072

Banasik M, Klinger M

Chronic allograft nephropathy--immunologic and nonimmunologic factors.
Ann Transplant. 2006;11: 7-10. Review.

Beatty PR, Krams SM, Martinez OM.

Involvement of IL-10 in the autonomous growth of EBV-transformed B cell lines.
J Immunol 1997; 158: 4045-51

Birkeland SA, Bendtzen K, Moller B, Hamilton-Dutoit S, Andersen HK.

Interleukin-10 and posttransplant lymphoproliferative disorder after kidney transplantation.
Transplantation 1999; 67: 876-81

Birkeland SA, Hamilton-Dutoit S, Sandvej K et al.

EBV-induced post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD).
Transplant Proc 1995; 27: 3467-72

Bittar A. E., Ratcliffe P. J., Richardson A. J.

The prevalence of hyperlipidemia in renal transplant recipients
Transplantation 1990 ; 59: 987-992

Bloom RD, Rao V, Weng F, Grossman RA, Cohen D, Mange KC

Association of hepatitis C with posttransplant diabetes in renal transplant patients on tacrolimus.

J Am Soc Nephrol 2002; 13: 1374-1380

Border WA, Noble NA.

Cytokines in kidney disease: the role of transforming growth factor-beta.

Am J Kidney Dis 1993; 22: 105-13

Cartwright NH, Demaine AG, Hurlock N et al.

Cytokine secretion in mixed lymphocyte culture: a prognostic indicator of renal allograft rejection in addition to HLA mismatching.

Transplant Immunol 2000; 8: 109-14

Cockfield SM.

Identifying the patient at risk for post-transplant lymphoproliferative disorder.

Transpl Infect Dis 2001; 3: 70-8

Coll E, Cormand B, Campos B, Gonzalez-Nunez D, Inigo P, Botey A, Poch E.

Association of TGF-beta1 polymorphisms with chronic renal disease.

J Nephrol 2004; 17: 794-9.

Curtis RE, Travis LB, Rowlings PA et al.

Risk of lymphoproliferative disorders after bone marrow transplantation: a multi-institutional study.

Blood 1999; 94: 2208-16

Di Girolamo N, Visvanathan K, Lloyd A, Wakefield D.

Expression of TNF-alpha by human plasma cells in chronic inflammation.

J Leukoc Biol 1997; 61: 667-78

Dimény E., Tufveson G., Lithell H. et al. The influence of pretransplant lipoprotein abnormalities on the early results of renal transplantation Eur J Clin Invest 1993 ; 23: 572-579

Freedman B.

Susceptibility genes for hypertension and renal failure.

J Am Soc Nephrol 2003; 14: 192-194.

Gottschling-Zeller H, Birgel M, Scriba D. et al.

Depot-specific release of leptin from subcutaneous and omental adipocytes in suspension culture: Effect of tumor necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta1. Eur J Endocrinol 1999; 141: 436–442.

Hanto DW, Gajl-Peczalska KJ, Frizzera G et al.

Epstein-Barr virus (EBV) induced polyclonal and monoclonal B-cell lymphoproliferative diseases occurring after renal transplantation. Clinical, pathologic, and virologic findings and implications for therapy. Ann Surg 1983; 198: 356-69

Hammer MH, Brestrich G, Andree H

HLA type-independent method to monitor polyoma BK virus-specific CD4 and CD8 T-cell immunity Am J Transplant. 2006;6:625-31

Hornef MW, Bein G, Fricke L. et al.

Coincidence of Epstein-Barr virus reactivation, cytomegalovirus infection, and rejection episodes in renal transplant recipients. Transplantation. 1995; 60: 474-80

Hsu DH, de Waal Malefyt R, Fiorentino DF et al.

Expression of interleukin-10 activity by Epstein-Barr virus protein BCRF1. Science 1990; 250: 830-32

Ibels LS, Alfrey AC, Weil R

Hyperlipidemia in adult, pediatric and diabetic renal transplant recipients. Am J Med. 1978; 64: 634-42.

Jabs WJ, Hennig H, Kittel M et al.

Normalized Quantification by Real-Time PCR of Epstein-Barr Virus Load in Patients at Risk for Posttransplant Lymphoproliferative Disorders. J Clin Microbiol. 2001; 39: 564-569

Kasiske BL, Snyder JJ, Gilbertson D et al.

Diabetes mellitus after kidney transplantation in the United States. Am J Transplant 2003; 3: 178-185

Kee BL, Rivera RR, Murre C.

Id3 inhibits B lymphocyte progenitor growth and survival in response to TGF- β . Nat. Immunol. 2001; 2: 242–47

Khoury JA, Storch GA, Bohl DL et al.

Prophylactic versus preemptive oral valganciclovir for the management of cytomegalovirus infection in adult renal transplant recipients. Am J Transplant. 2006;6: 2134-43

Kishimoto T.

Interleukin-6: from basic science to medicine--40 years in immunology.
Annu Rev Immunol. 2005;23: 1-21. Review.

Kochanowski B, Niller HH, Jilg W, Wolf H.

Epstein-Barr-Virus.
In: Porstmann T (Hrsg.): Virusdiagnostik. Diagnostische Bibliothek, 1996; 1: 235-57.

Kollias G, Douni E, Kassiotis G, Kontoyiannis D.

The function of tumour necrosis factor and receptors in models of multi-organ inflammation, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis and inflammatory bowel disease.
Ann Rheum Dis 1999; 58 Suppl 1: I32-39

Lan Q, Zheng T, Rothman N et al.

Cytokine polymorphisms in the Th1/Th2 pathway and susceptibility to non-Hodgkin lymphoma.
Blood. 2006;107: 4101-8.

Lautenschlager I, Härmä M, Höckerstedt K

Human herpesvirus-6 infection is associated with adhesion molecule induction and lymphocyte infiltration in liver allografts.
J Hepatol. 2002; 37: 648-54

Li MO, Wan YY, Sanjabi S et al.

Transforming growth factor-beta regulation of immune responses.
Annu Rev Immunol. 2006; 24: 99-146

Lin J, Ziring D, Desai S. et al.

TNFalpha blockade in human diseases: An overview of efficacy and safety.
Clin Immunol. 2007 Oct 2; [Epub ahead of print]

Lopau K, Greser A, Wanner C.

Efficacy and safety of preemptive anti-CMV therapy with valganciclovir after kidney transplantation.
Clin Transplant. 2007; 21: 80-5

Malleo G, Mazzon E, Siriwardena AK, Cuzzocrea S.

Role of tumor necrosis factor-alpha in acute pancreatitis: from biological basis to clinical evidence.
Shock. 2007; 28: 130-40.

Massague J, Blain SW, Lo RS.

TGF-beta signaling in growth control, cancer, and heritable disorders.
Cell. 2000; 103: 295-309

Masutani K, Miyake K, Nakashima H et al.

Impact of interferon-gamma and interleukin-4 gene polymorphisms on development and progression of IgA nephropathy in Japanese patients.
Am J Kidney Dis 2003; 41: 371-9.

Meisel C, Vogt K, Platzer C, Randow F, Liebenthal C, Volk HD.
Differential regulation of monocytic tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 expression.
Eur J Immunol 1996; 26: 1580-86

Miyake K, Nakashima H, Akahoshi M, et al.
Genetically determined interferon- γ production influences the histological phenotype of lupus nephritis.
Rheumatology 2002; 41: 518-24

Muti G, Klersy G, Baldanti F et al.
Epstein-Barr virus (EBV) load and interleukin-10 in EBV-positive and EBV-negative post-transplant lymphoproliferative disorders.
Br J Haematol. 2003; 122: 927-33

Nalesnik MA, Starzl TE.
Epstein-Barr virus, infectious mononucleosis, and posttransplant lymphoproliferative disorders.
Transplant Sci. 1994; 4: 61-79

Ng DP, Warram JH, Krolewski AS.
TGF-beta 1 as a genetic susceptibility locus for advanced diabetic nephropathy in type 1 diabetes mellitus: an investigation of multiple known DNA sequence variants.
Am J Kidney Dis 2003; 41: 22-8

Ode-Hakim S, Kern F, Prösch S, et al.
Association between CMV-related graft injury and circulating of cytokine-producing CD8+ memory cells.
Transplant Proc 1995; 27: 951.

Pelletier R, Pravica V, Perrey C, Xia D, Ferguson RM, Hutchinson I, Orosz C.
Evidence for a genetic predisposition towards acute rejection after kidney and simultaneous kidney-pancreas transplantation.
Transplantation 2000; 70: 674-80.

Poole KL, Gibbs PJ, Evans PR, Sadek SA, Howell WM.
Influence of patient and donor cytokine genotypes on renal allograft rejection: evidence from a single centre study.
Transpl Immunol 2001; 8: 259-65

Purdue MP, Lan Q, Kricker A.

Polymorphisms in immune function genes and risk of non-Hodgkin lymphoma: findings from the New South Wales non-Hodgkin lymphoma study.
Carcinogenesis. 2006; 25: 210-23

Purtilo DT, Sakamoto K, Barnabaj et al.

Epstein-Barr virus induced diseases in males with X-linked lymphoproliferative syndrome (XLP).
Am J Med, 1982; 73: 49-55

Randhawa P, Blakolmer K, Kashyap R

Allograft liver biopsy in patients with Epstein-Barr virus-associated posttransplant lymphoproliferative disease.
Am J Surg Pathol. 2001; 25: 324-30

Reinke P, Fietze E, Döcke WD, et al.

Late acute rejection in long-term allograft recipients- diagnostic and predictive value of circulating activated T cells.
Transplantation 1994; 58: 35

Rosset F, Garcia E, Defrance T et al.

Interleukin 10 is a potent growth and differentiation factor for activated human B lymphocytes.
Proc Natl Acad Sci U S A. 1992; 89: 1890-3

Rovin BH, Lu L, Zhang X.

A novel interleukin-8 polymorphism is associated with severe systemic lupus erythematosus nephritis.
Kidney Int 2002; 62: 261-5

Sankaran D, Asderakis A, Ashraf S et al.

Cytokine gene polymorphisms predict acute graft rejection following renal transplantation. Kidney Int 1999; 56: 281-8

Surdacki A., Wieczorek-Surdacka E., Sulowicz W., Dubiel J. S.

Effect of having a functioning cadaveric renal transplant on cardiovascular mortality risk in patients on renal replacement therapy
Nephrol Dial Transplant 1995 ; 10: 1218-1223

Swinnen LJ.

Diagnosis and treatment of transplant-related lymphoma.
Ann Oncol. 2000; 1: 45-48

Syrjanen J, Hurme M, Lehtimäki T, Mustonen J, Pasternack A.

Polymorphism of the cytokine genes and IgA nephropathy.

Kidney Int 2002; 61: 1079-85

Tegoshi H, Hasegawa G, Obayashi H. et al

Polymorphisms of interferon-gamma gene CA-repeat and interleukin-10 promoter region (-592A/C) in Japanese type I diabetes.
Hum Immunol 2002; 63: 121-128

Trappe R, Riess H, Babel N et al.

Salvage chemotherapy for refractory and relapsed posttransplant lymphoproliferative disorders (PTLD) after treatment with single-agent rituximab.
Transplantation. 2007; 83: 912-18

Tsoukas CD, Lambris JD

Expression of CR2/EBV receptors on human thymocytes detected by monoclonal antibodies.
Eur J Immunol. 1988; 18: 1299-302

Vandenbroeck K, Goris A.

Cytokine gene polymorphisms in multifactorial diseases: gateways to novel targets for immunotherapy?
Trends Pharmacol Sci 2003; 24: 284-9

Webb A. T., Plant M., Reaveley D. A. et al.

Lipid and lipoprotein (a) concentrations in renal transplant recipients
Nephrol Dial Transplant 1992 ; 7 : 636-641

Weng FL, Patel AM, Wanchoo R et al.

Oral ganciclovir versus low-dose valganciclovir for prevention of cytomegalovirus disease in recipients of kidney and pancreas transplants.
Transplantation. 2007; 83: 290-6

Wolf H, Seibl R

Benign and malignant disease caused by EBV
J Invest Dermatol. 1984;83 (1 Suppl): 88-95. Review.

Wong TYH, Poon P, Chow KM, Szeto CC, Cheung MK, Li PKT.

Association of transforming growth factor-beta (TGF- β) T869C (Leu10Pro) gene polymorphisms with type 2 diabetic nephropathy in Chinese .
Kidney Int 2003; 63: 1831-5

8 Abkürzungsverzeichnis

CMV	Cytomegalovirus
EBV	Epstein-Barr-Virus
ESRD	End Stage Renal Disease
GCV	Ganciclovir
GN	Glomerulonephritis
IFN	Interferon
IL	Interleukin
PTDM	Post Transplant Diabetes Mellitus
PTLD	Post Transplant Lymphoproliferative Disorder
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
TGF	Transforming Growth Factor
TNF	Tumor Necrosis Factor
VGC	Valganciclovir

9 Danksagung

Mein tiefster und aufrichtiger Dank gilt meiner langjährigen Betreuerin, Frau Professor Dr. med. Petra Reinke. Sie hat durch ihre Unterstützung, Ideen und Denkanstößen meine klinische und wissenschaftliche Tätigkeit in großem Maße gefördert und durch ihre kritischen Anregungen und starken persönlichen Einsatz die wissenschaftlichen Projekte, die dieser Arbeit zugrunde liegen, mitinitiiert und mitbegleitet. Sie ist mir stets ein Vorbild im ärztlichen Alltag gewesen. Ihre Art im Umgang mit Kollegen und Kooperationspartnern eröffnete mir neue Entwicklungsfreiräume und hat optimale Voraussetzungen für ein motiviertes und erfolgreiches Arbeiten geschaffen. Ich danke ihr für ihre unermüdliche, kompetente und stets geduldige Unterstützung bei Problemen, für ihre Freundschaft und Loyalität und für vieles mehr.

Die experimentellen Arbeiten, die dieser Habilitation zu Grunde liegen, sind im Rahmen einer engen Kooperation mit dem Institut für Medizinische Immunologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte, entstanden. Für die Bereitstellung der Laborräume und deren apparative Ausstattung sowie für die wissenschaftliche Mitbetreuung danke ich herzlich Herrn Professor Dr. med. Hans-Dieter Volk, dem Direktor des Instituts für Medizinische Immunologie.

Herrn Professor Dr. med. Ulrich Frei gilt mein Dank für die Förderung meiner Tätigkeit und die freundliche Unterstützung in Klinik und Forschung.

Besonders danken möchte ich auch meinem engsten Kollegen und Freund, Dr. med. Markus Hammer, für seinen Ansporn, seine unerschöpfliche konstruktive Kritik, seine Loyalität, seine bedingungslose Hilfsbereitschaft und seinen Humor.

Weiterer Dank gilt folgenden Mitarbeitern und Kollegen am Institut für Medizinische Immunologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin, für ihrer Diskussionsbereitschaft und alltägliche Hilfe: Evelyn Lieske, Katrin Vogt, Christa Liebenthal, Stoyan

Karaivanov, Natalia Schneider, Lydia Stele, Sandra Zwinger, Gordon Brestrich sowie Dr. rer.nat. Birgit Sawitzki, Dr. rer.nat. Martina Seifert, Dr. rer.nat. Gerald Grütz, Dr. rer.nat. Mareen Matz, Dr. med. Athanasios Vergopoulos, Dr. rer.nat. Kerstin Wolk und Dr. med. Robert Sabat.

Besonderer Dank gebührt auch den Mitarbeitern der Nierentransplantationsambulanz Schwestern Astrid, Sylvia, Hanna und Anett, sowie meinen ärztlichen Kollegen Dr. med. Peter Nickel, Dr. med. Jan Hörstrup, Dr.med. Christian Rosenberger und Gantuja Bold für ihre Hilfe bei der Patientenauswahl und Bereitstellung von Proben.

Besondern Dank möchte ich auch meinen langjährigen Kooperationspartnern der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie und Onkologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin am Campus Virchow Klinikum aussprechen. Danken möchte ich insbesondere Herrn Prof. Dr. med. Hanno Riess, Dr. med. Ralf Ulrich Trappe und Matthias Papp-Vary für die enge Kooperation im Rahmen ihrer Tätigkeit für die Deutsche PTLD Studiengruppe (DPTLD SG) und für die Mitbetreuung gemeinsamer Patienten.

Für die finanzielle Unterstützung meiner wissenschaftlichen Tätigkeit danke ich der Else-Kröner-Fresenius-Stiftung sowie der Rahel-Hirsch-Habilitationsstiftung.

Mein letzter jedoch wichtigster Dank gilt meinem Ehemann Daniel, meinen drei Söhnen Michael, Samuel und Noel, sowie meinen Eltern und Schwiegereltern. Ihnen habe ich das stabile aber auch immer aufregende familiäre Umfeld und den erhaltenen Blick für die Prioritäten im Leben zu verdanken.

10 Erklärung gemäß §4 Abs. 3(k) der HabOMed der Charité vom 10.01.2005

Hiermit erkläre ich, dass weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde, die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden und mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Berlin, 25.07.2007

Dr. med. Nina Babel