

Aus dem CharitéCentrum für Innere Medizin mit Kardiologie,
Gastroenterologie, Nephrologie
Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Nephrologie
Unter Leitung von Prof. Dr. Hans-Hellmut Neumayer

Habilitationsschrift

Chronische Allograftdysfunktion nach Nierentransplantation - Rolle der mTOR-Inhibition und prädiktiver Wert der Proteinurie

Zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Innere Medizin
vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät der
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von Dr. med. Fritz Diekmann
geboren am 27.05.1968 in Lübeck

Eingereicht: Februar 2009

Dekanin: Frau Prof. Dr. med. A. Grütters-Kieslich

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Helmut Geiger, Frankfurt/M.

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Bernhard Krämer, Herne

Inhaltsverzeichnis

1. VORBEMERKUNGEN	3
2. HÄUFIG VERWENDETE ABKÜRZUNGEN	5
3. EINLEITUNG	6
4. ERGEBNISSE	15
4.1. Bedeutung der Proteinurie bei der Umstellung auf mTOR-Inhibitor-basierte Therapie	15
4.1.1. Prädiktoren einer erfolgreichen Umstellung auf Sirolimus	15
4.1.2. Konversion auf Sirolimus bei chronischer Allograftdysfunktion: Die 5-Jahres-Daten bestätigen den prädiktiven Wert der Proteinurie	17
4.1.3. Zunahme der Proteinurie nach Konversion von einem Calcineurin-Inhibitor auf Sirolimus bei nierentransplantierten Patienten mit chronischer Allograftdysfunktion	19
4.2. mTOR-Inhibition als Monotherapie in der Erhaltungsphase nach Nierentransplantation	21
4.2.1. Sirolimus-Monotherapie als Immunsuppression für Langzeittransplantierte — Eine Pilotstudie	21
4.2.2. Sirolimus-Monotherapie in der Erhaltungsphase nach Nierentransplantation: Erfahrungen mit der Behandlung von 50 Patienten in einem Zentrum	23
4.3. mTOR-Inhibition als de novo Therapie in der Nierentransplantation mit marginalen Spendern	24
4.3.1. Sequentielle vierfache Immunsuppression mit Sirolimus bei Transplantation mit erweitertem Spenderprofil und Spendern nach kardialem Tod	24
4.3.2. Der Einfluss von Sirolimus auf die Proteinurie bei de novo Therapie nach Nierentransplantation mit erweitertem Spenderspektrum: Vergleich von zwei CNI-freien Protokollen	25
4.4. mTOR-Inhibition und Proteinurie im Tiermodell	27
5. DISKUSSION	28
6. ZUSAMMENFASSUNG	37
7. LITERATURVERZEICHNIS	38
8. EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG	45
9. DANKSAGUNG	46

1. Vorbemerkungen

Die Ergebnisse dieser kumulativen Habilitationsschrift basieren auf Studien, die ich im Rahmen meiner klinischen und experimentellen Tätigkeit in der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Nephrologie der Charité Campus Mitte und während meines dreijährigen Aufenthaltes an der Klinik für Nephrologie und Nierentransplantation des Hospital Clínic der Universität Barcelona gemeinsam mit wissenschaftlichen und technischen Mitarbeitern durchführen konnte.

Ganz besonders möchte ich an dieser Stelle einige Personen hervorheben, die meine Arbeit in hervorragender Weise unterstützt und gefördert haben.

Prof. Dr. Hans-Hellmut Neumayer	Direktor der Med. Klinik m. S. Nephrologie, Charité Campus Mitte
Prof. Dr. Klemens Budde	Leitender Oberarzt der Med. Klinik m. S. Nephrologie, Charité Campus Mitte
PD Dr. Stanislao Morgera	ehemaliger Oberarzt der Med. Klinik m. S. Nephrologie, Charité Campus Mitte; jetzt Nephrologische Praxis am Prerower Platz, Berlin
Prof. Dr. Josep M. Campistol	Direktor des Klinischen Institutes für Nephrologie und Urologie, Hospital Clínic, Barcelona
Dr. Federico Oppenheimer	Chefarzt der Abteilung für Nierentransplantation des Hospital Clínic, Barcelona

Dr. Alex Gutiérrez-Dalmau	Oberarzt, Klinik für Nephrologie des Hospital Miguel Servet, Zaragoza, Spanien
Dr. Ignacio Revuelta, Dr. Luis Quintana	Klinisches Institut für Nephrologie und Urologie, Hospital Clínic, Barcelona
Dr. Jordi Rovira, Dr. Elisenda Bañon, Dr. María J. Ramírez, Dr. Amanda Solé, Dr. Martha Arias, Daniel Moya	Experimentelles Labor für Nephrologie und Transplantation, Hospital Clínic, Barcelona

Die chronische Calcineurin-Inhibitor-assoziierte Nephrotoxizität als eine Ursache des klinischen Syndroms der chronischen Allograftdysfunktion nach Nierentransplantation ist der Gegenstand meiner Forschungstätigkeit. Dabei steht der Ersatz der Calcineurin-Inhibitor-Therapie durch andere Immunsuppressiva, insbesondere mTOR-Inhibitoren, im Mittelpunkt.

Die Ergebnisse von klinischen und experimentellen Untersuchungen auf diesem Gebiet, die in „peer-reviewed“ Zeitschriften von mir als Erst- oder Letztautor veröffentlicht wurden, bilden den Mittelpunkt dieser Habilitationsschrift.

Sämtliche Arbeiten wurden auf nationalen und internationalen Kongressen vorgestellt.

In den einzelnen Kapiteln der vorliegenden Habilitationsschrift werden die wesentlichen Ergebnisse der im Anhang aufgeführten Artikel dargestellt und anschließend übergreifend diskutiert. Die Zusammenfassung soll das therapeutische Gesamtkonzept der hier präsentierten Arbeiten beleuchten.

2. Häufig verwendete Abkürzungen

CAD	chronische Allograftdysfunktion
CMV	Cytomagalievirus
CNI	Calcineurin-Inhibitor
CsA	Cyclosporin A
Kap	Kapitel
mTOR	Mammalian Target of Rapamycin
SRL	Sirolimus, Rapamycin
TGF	Transforming Growth Factor
UNOS	United Network for Organ Sharing
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VEGF-R	Rezeptor des Vascular Endothelial Growth Factor

3. Einleitung

3.1. Chronische Allograftdysfunktion

Chronische Allograftdysfunktion (CAD) ist die häufigste Vorstufe des Transplantatverlustes jenseits des ersten Jahres nach Nierentransplantation (1). Trotz der dramatischen Verbesserung der immunsuppressiven Therapie und der Infektprophylaxe mit Verbesserung des Transplantat- und Patientenüberlebens während des ersten Jahres nach Transplantation konnte keine vergleichbare Verbesserung des Langzeitorganüberlebens erzielt werden (2). Die Hauptkomplikationen nach Nierentransplantation sind der Tod aufgrund vaskulärer, maligner oder infektiöser Ursachen und der chronische Verlust der Organfunktion.

Differentialdiagnostisch sind verschiedene Faktoren zu unterscheiden, die ursächlich sein können für den chronischen Funktionsverlust des Organs. Zu den klinischen Faktoren zählen höheres Spenderalter, weiblicher Spender versus männlicher Spender, vaskuläre Todesursache des Spenders, transplantierte Nephronmasse, Ischämiezeit sowie die verzögerte Funktionsaufnahme des Transplantates genauso wie Diabetes mellitus des Empfängers, Gewebekompatibilität, präformierte Antikörper, Blutdruckeinstellung des Empfängers und die Therapieadhärenz (3).

Ferner zählen infektiöse Komplikationen wie z.B. die CMV-Erkrankung und die BK-Virus-Nephropathie zu den Faktoren, die auch zu einer chronischen Funktionsverschlechterung beitragen können.

Differentialdiagnostisch müssen bei chronischer Funktionsverschlechterung der Transplantatfunktion verschiedene nicht-immunologische Ursachen in Erwägung gezogen werden: Obstruktion des Ureters, Stenose der Transplantatarterie, rezidivierende oder de novo Glomerulopathie, Polyoma-Virus-Nephropathie,

rezidivierende Harnwegsinfekte, nephrotoxische Medikamente. Darüber hinaus können auch immunologische Ursachen zu einem späten Funktionsverlust führen wie z.B. späte oder rezidivierende Rejektionen, besonders bei fehlender Therapieadhärenz oder nicht gerechtfertigter Minimierung der immunsuppressiven Therapie. Hierbei sind die chronische zelluläre und chronische humorale Rejektion zu unterscheiden. Letztere findet ein histopathologisches Korrelat in der Transplantatglomerulopathie.

3.2. Calcineurin-Inhibitor-induzierte Toxizität

Trotz sehr gutem Ein-Jahres-Transplantatüberleben, das durch die Einführung der Calcineurin-Inhibitoren Cyclosporin und Tacrolimus ermöglicht wurde, werden häufig Bedenken geäußert bezüglich der langfristigen Toxizität der Calcineurin-Inhibitoren (4-10).

Nankivell und Mitarbeiter konnten in einer longitudinalen Studie zeigen, dass langfristige Calcineurin-Inhibitor-Toxizität nach Nierentransplantation häufig ist und charakterisiert wird durch zunehmende arterioläre Hyalinose, Verengung der kleinen Gefäße und progressive ischämische Glomerulosklerose (11). Dieser Schaden ist nicht durch leichte bis mittelgradige Reduktion der Calcineurin-Inhibitor-Dosis reversibel. Calcineurin-Inhibitor-Toxizität könnte erklären, warum paradoxerweise die Reduktion der frühen Abstoßungsepisoden nach Nierentransplantation durch die Einführung der Calcineurin-Inhibitoren nicht zu einer entsprechenden Verbesserung der Langzeitresultate geführt hat (12).

Somit kann ein Nierentransplantat, das in der Anfangsphase nach Transplantation durch die Calcineurin-Inhibitor-Therapie vor immunologischem Schaden geschützt ist, im Langzeitverlauf durch den nephrotoxischen Effekt desselben Calcineurin-Inhibitors geschädigt werden bis zum Funktionsverlust des Transplantates. Tatsächlich handelt es sich bei Calcineurin-Inhibitoren nachgewiesenermaßen um Nephrotoxine (10, 13, 14), und die langfristige Exposition über viele Jahre führt dazu, dass diese nephrotoxischen Effekte als bisher kaum vermeidbare Komplikation der Nierentransplantation angesehen werden müssen.

3.3. Immunologische Ursachen der chronischen Allograftdysfunktion

Frühe akute, insbesondere humorale, Rejektionen sind im allgemeinen mit einem schlechteren Langzeitverlauf nach Nierentransplantation assoziiert. Aber auch chronische zelluläre und humorale Rejektionen können eine chronische Transplantatdysfunktion und den Funktionsverlust des Transplantates nach sich ziehen (3). Die histologischen Veränderungen im Rahmen von akuten und chronischen Abstoßungen und auch nicht genau klassifizierbarer Ursachen bei Funktionsverschlechterung des Transplantates werden nach der BANFF-Klassifikation eingeteilt (15).

Die nicht ausreichend behandelte, klinisch apparente zelluläre Rejektion führt zu zunehmender interstitieller Fibrose und tubulärer Atrophie und schließlich in der Spätphase auch zu glomerulärer Sklerose. Aber auch die subklinische Rejektion, nicht assoziiert mit einem Kreatininanstieg, geht mit interstitieller Fibrose einher. Die Anwesenheit von inflammatorischen Zellen in Biopsieabschnitten mit Fibrose ist assoziiert mit einer Zunahme des Fibrosegebietes in nachfolgenden Kontrollbiopsien (16). Diese Daten zeigen, dass nicht behandelte zelluläre Inflammation zur Zerstörung von Tubuli und zur interstitiellen Fibrose führt, ohne direkt mit Kreatininveränderungen einherzugehen. Die chronische humorale Rejektion findet in der Transplantatglomerulopathie ihren Ausdruck, die durch vergrößerte Glomerula, Expansion der mesangialen Matrix, Veränderung der Mesangialzellen und einer Doppelkonturierung der mesangialen Basalmembran gekennzeichnet ist (3). Die wichtige Rolle der antikörpervermittelten chronischen Rejektion in der chronischen Allograftdysfunktion wird verdeutlicht durch die Tatsache, dass der Nachweis von

HLA-Antikörpern im Blut des Transplantatempfängers ein schlechteres Resultat vorhersagt (17). Eine mögliche Ursache hierfür ist, dass hohe HLA-Antikörper-Titer endotheliale Zellen aktivieren und Proliferation induzieren, was zur Schädigung der Gefäße des Transplantates beitragen könnte (18).

3.4. Proteinurie nach Nierentransplantation

Ein Jahr nach Nierentransplantation lässt sich bei 30-45 % der Transplantatempfänger eine Proteinurie nachweisen (19, 20). In diesem Zusammenhang wird die Tragweite der Proteinurie nach Nierentransplantation deutlich, wenn man die durch Roodnat und Mitarbeiter erhobenen Ergebnisse mit in Erwägung zieht (21). Sie konnten an einer Gruppe von 722 Patienten, die in den Jahren 1971 bis 1995 ein Nierentransplantat erhielten und mindestens fünf Jahre Nachbeobachtungszeit aufweisen konnten, zeigen, dass eine Proteinurie von mehr als 200 mg/Tag mit einem deutlich schlechteren Transplantat- und Patientenüberleben einhergeht. Dies konnte durch Halimi et al. und auch durch Amer und Mitarbeiter bestätigt werden (19, 20). In den letztgenannten beiden Arbeiten konnte auch gezeigt werden, dass selbst eine geringe Proteinurie von 150-500 mg/Tag mit einem signifikant schlechteren Transplantatüberleben einhergeht.

Histologisch lässt sich bei der Mehrzahl der Patienten mit einer Proteinurie über 1500 mg/Tag ein glomerulärer Schaden nachweisen. Hierbei kann es sich um eine rekurrente Glomerulopathie (z.B. fokal-segmentale Glomerulosklerose) oder auch um eine neu aufgetretene glomeruläre Erkrankung handeln (20).

Mögliche sonstige Risikofaktoren für eine Proteinurie nach Nierentransplantation sind ein höheres Spenderalter, längere warme und kalte Ischämiezeiten sowie eine kardiovaskuläre Todesursache des Spenders (19).

Aber auch immunologische Ursachen können eine Rolle spielen. Der Nachweis von donorspezifischen und nicht-donorspezifischen HLA-Antikörpern ist mit einer erhöhten Inzidenz von Proteinurie und vor allen Dingen auch mit schlechterem

Transplantatüberleben assoziiert (22). Donorspezifische Antikörper lassen sich bei chronisch-humoralen Rejektionen nachweisen. Der chronische humorale Schaden führt zum histologischen Bild der Transplantatglomerulopathie, die oft mit Proteinurie einhergeht.

Insgesamt muss man davon ausgehen, dass Proteinurie ein Marker für strukturellen Schaden bzw. Qualität der Transplantatniere darstellt und sich z.B. in Assoziation mit glomerulärem Schaden (20) oder auch chronischem immunologischen Schaden manifestiert.

3.5. mTOR-Inhibitoren

Sirolimus (SRL, Rapamycin) ist ein Makrolid-Antibiotikum, das von *Streptomyces hygroscopicus* produziert wird. Es besitzt immunsuppressive und antiproliferative Eigenschaften (23). Sirolimus blockiert die proliferative Antwort verschiedener Zelltypen auf Wachstumsfaktoren, indem es die mTOR-(mammalian target of rapamycin)-Signalkaskade inhibiert. Auf diese Weise inhibiert SRL Interleukin-2-induzierte Lymphozytenproliferation genauso wie die Intimaproliferation in den Gefäßen. Hierbei handelt es sich um Charakteristika der chronischen Allograftabstoßung (23, 24). Diese Eigenschaften und die fehlende Nephrotoxizität (25, 26) machen SRL zu einer viel versprechenden Alternative zu Calcineurin-Inhibitoren im Bereich der Nierentransplantation. Prinzipiell gelten die o.g. Punkte auch für das Sirolimus-Derivat Everolimus.

3.6. Fragestellung:

Da die chronische Calcineurin-Inhibitor-Toxizität eine der Hauptursachen der chronischen Allograftdysfunktion darstellt, stand im Rahmen dieser Arbeit im Vordergrund, zu klären, ob und unter welchen Umständen in der späten Phase nach Nierentransplantation die Entfernung des Calcineurin-Inhibitors unter Ersetzen durch einen mTOR-Inhibitor einen Vorteil in Bezug auf das Transplantatüberleben und die Nierenfunktion nach sich zieht. Darüber hinaus war auch die Evaluation der Möglichkeit einer *de novo* Therapie mit Sirolimus zur Vermeidung von früher Calcineurin-Inhibitor-Toxizität Gegenstand der Arbeit. Im Hinblick auf das Ansprechen auf die Umstellung der immunsuppressiven Therapie von CNI auf SRL wurden prognostische Parameter und hierbei insbesondere die Proteinurie untersucht.

4. Ergebnisse

4.1. Bedeutung der Proteinurie bei der Umstellung auf mTOR-Inhibitor-basierte Therapie

4.1.1. Prädiktoren einer erfolgreichen Umstellung auf Sirolimus

Die chronische Allograftdysfunktion ist eine Hauptursache des Transplantatverlustes in der Erhaltungsphase nach Nierentransplantation. 59 nierentransplantierte Patienten mit chronischer Allograftdysfunktion ohne histologische Zeichen einer Rejektion wurden nach Umstellung von einem Calcineurin-Inhibitor auf Sirolimus untersucht mit dem Ziel, prädiktive Faktoren für eine erfolgreiche Umstellung zu identifizieren. Patienten- und Transplantatüberleben nach einem Jahr betrugen 100% bzw. 92%. Patienten mit gutem Ansprechen (54%; „Responders“) erfuhren eine Besserung des Kreatininwertes ($2,75 \pm 0,75$ auf $2,22 \pm 0,64$ mg/dL; $p < 0,01$). „Non-responders“ zeigten eine Verschlechterung des Kreatininwertes ($3,15 \pm 1,02$ auf $4,44 \pm 1,60$ mg/dL; $p < 0,01$). Die Kreatininwerte bei Umstellung unterschieden sich nicht zwischen den beiden Gruppen, signifikante Unterschiede ergaben sich jedoch für die Proteinurie (519 ± 516 vs. 1532 ± 867 mg/Tag, $p < 0,01$), die chronische BANFF-Klassifikation für chronische Allograftnephropathie (CAN) ($1,2 \pm 0,5$ vs. $1,9 \pm 0,6$; $p < 0,01$), vaskuläre Intimaveränderungen ($1,2 \pm 0,7$ vs. $1,7 \pm 0,7$; $p = 0,048$) und die Anzahl der akuten Rejektionen vor Umstellung ($0,73 \pm 0,69$ vs. $1,27 \pm 0,96$; $p < 0,05$) unterschieden sich signifikant zwischen „Responders“ und „Nonresponders“. In der multivariaten Analyse blieb nur noch die niedrige Proteinurie als einzige unabhängige Variable signifikant. Proteinurie unter 800 mg/Tag hat einen positiven prädiktiven Wert von 90% für eine erfolgreiche Umstellung.

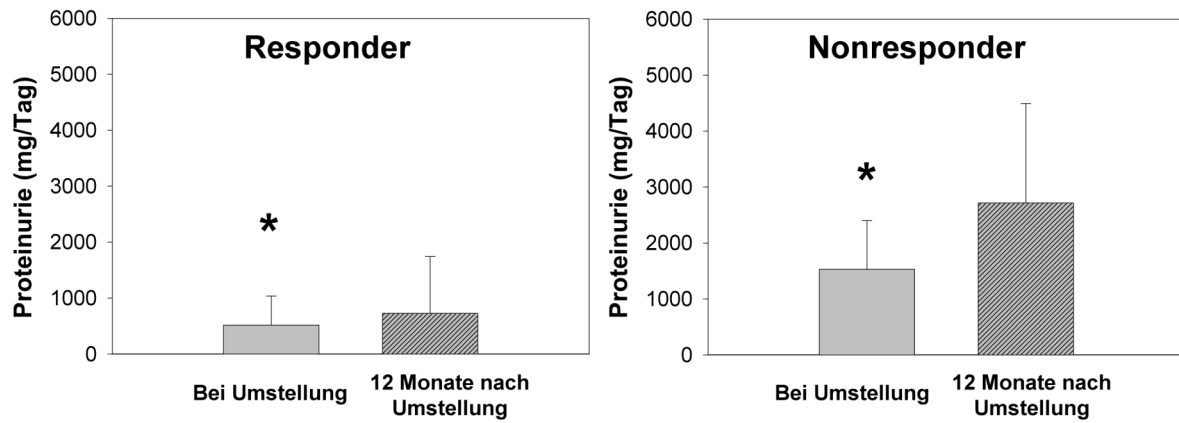


Abbildung 1: Höhe der Proteinurie im mg/Tag der „Responder“ und „Nonresponder“ zum Zeitpunkt der Umstellung und ein Jahr danach.

* $p < 0,05$ im Vergleich zum Wert 12 Monate nach Umstellung

4.1.2. Konversion auf Sirolimus bei chronischer Allograftdysfunktion: Die 5-Jahres-Daten bestätigen den prädiktiven Wert der Proteinurie

Mit dem Ziel, das Transplantatüberleben und die Transplantatfunktion nach Konversion ebenso wie den prädiktiven Wert der Proteinurie zu evaluieren, wurde diese Folgestudie durchgeführt bei 59 Patienten mit chronischer Allograftdysfunktion. Zuvor war eine Proteinurie < 800 mg/Tag bei Umstellung als Prädiktor für eine erfolgreiche Umstellung nach einem Jahr identifiziert worden. Die Beobachtungszeit betrug $5,3 \pm 0,8$ (3,7–6,8) Jahre. Das Patientenüberleben betrug 88%, das Transplantatüberleben 38%. Die Kreatininclearance bei der letzten Untersuchung betrug $33,7 \pm 14$ ml/min, die Proteinurie 826 ± 860 mg/Tag. Proteinurie bei Umstellung von <800 mg/Tag war mit einem besseren Transplantatüberleben assoziiert. In einer Cox-Analyse, in der Proteinurie >800 mg/Tag, glomeruläre Filtrationsrate, Alter bei Konversion, chronische Banff-Klassifikation bei Umstellung und Zeit nach Umstellung berücksichtigt wurden, war höhere Proteinurie mit einem Transplantatverlustrisiko von 3,89 behaftet.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Prognose der chronischen Allograftdysfunktion schlecht ist, jedoch bleibt die Konversion eine Alternative für Patienten mit niedriger Proteinurie bei Umstellung mit dem Ziel, den schleichenden Funktionsverlust zu mindern.

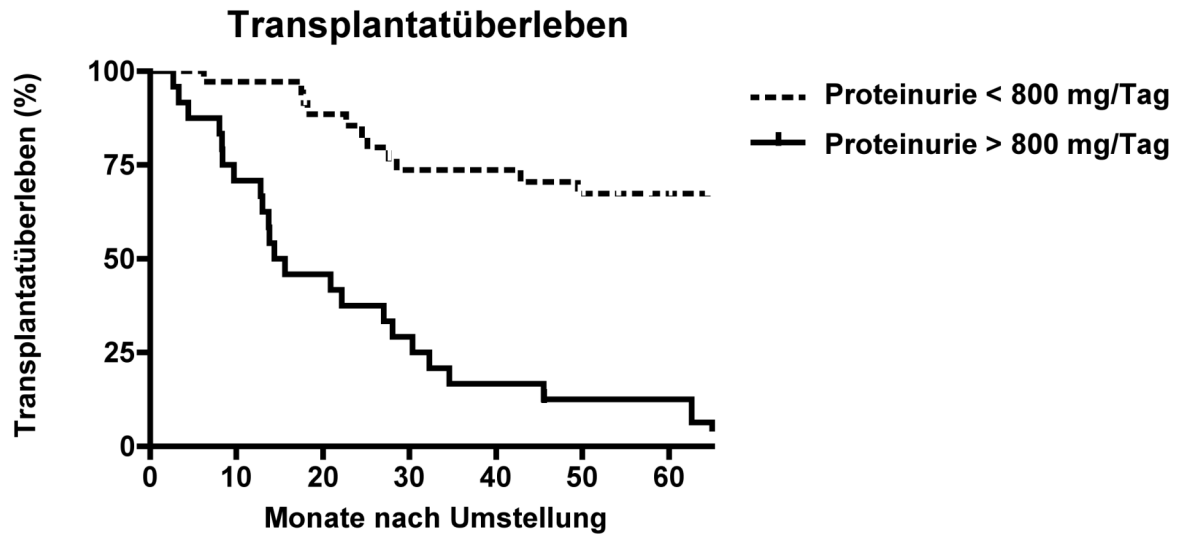


Abbildung 2: Transplantatüberleben in den Patientengruppen mit Proteinurie bei Umstellung von < 800 mg/Tag oder > 800 mg/Tag.

4.1.3. Zunahme der Proteinurie nach Konversion von einem Calcineurin-Inhibitor auf Sirolimus bei nierentransplantierten Patienten mit chronischer Allograftdysfunktion

Die Umstellung der Behandlung auf einen mTOR-Inhibitor bei Patienten mit chronischer Allograftdysfunktion scheint in vielen Fällen mit einer Zunahme der Proteinurie verbunden zu sein. Das Ziel unserer Studie war die Charakterisierung dieser bisher unerklärten Proteinurie nach Konversion. Von 149 Patienten wurden sechs Monate vor und sechs Monate nach Konversion die Proteinurie und die Nierenfunktion ausgewertet. Die Patienten wurden entsprechend der Proteinurie bei Umstellung in drei Gruppen eingeteilt (1: ≤ 300 mg/Tag; 2: >300 – 3500 mg/Tag; 3: $>3,5$ g/Tag). Insgesamt zeigte sich eine Zunahme der Proteinurie von 864 ± 1441 (0 – 12125) auf 1541 ± 1878 (0 – 10976) mg/Tag nach Konversion ($p < 0,001$) (Gruppe 1: 145 ± 92 vs. 669 ± 868 mg/Tag, $p < 0,001$; Gruppe 2: 1041 ± 799 vs. 1995 ± 2021 mg/Tag, $p < 0,001$; Gruppe 3: 6205 ± 3184 vs. 4859 ± 2122 mg/Tag, $p = n.s.$). Patienten mit einer Zunahme der Proteinurie > 500 mg/Tag ($n=60$; 40%) wiesen vor Konversion einen höheren Kreatininwert auf als Patienten mit keinem oder nur moderatem Anstieg ($2,5 \pm 0,8$ vs. $2,15 \pm 0,72$ mg/dl; $p=0,002$). Die Patientengruppe mit einem Anstieg der Proteinurie > 500 mg/Tag hatte nach sechs Monaten einen höheren Kreatininwert als die Gruppe mit moderatem Anstieg ($2,8 \pm 1,0$ vs. $2,1 \pm 1,2$; $p < 0,001$). 19 von 64 Patienten ohne Proteinurie vor Umstellung hatten einen Anstieg von > 500 mg/Tag. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Umstellung der Therapie auf einen mTOR-Inhibitor bei chronischer Allograftdysfunktion bei Patienten mit schon ausgeprägterem chronischen Schaden der Transplantatniere mit einem Anstieg der

Proteinurie einhergehen kann. Patienten mit guter Transplantatfunktion ohne Proteinurie profitieren von der Umstellung, während Patienten mit schon fortgeschrittener Transplantatdysfunktion und Proteinurie möglicherweise keinen Vorteil von der Umstellung haben.

4.2. *mTOR-Inhibition als Monotherapie in der Erhaltungsphase nach Nierentransplantation*

4.2.1. Sirolimus-Monotherapie als Immunsuppression für Langzeittransplantierte — Eine Pilotstudie

Chronische Allograftnephropathie (CAN), kardiovaskuläre Mortalität und maligne Erkrankungen sind die hauptsächlichen Komplikationen konventioneller Immunsuppression nach Nierentransplantation. Das Ziel dieser Machbarkeitsstudie war die Evaluation von SRL-Monotherapie in der Erhaltungsphase nach Nierentransplantation. Alle Patienten aus dem Transplantationszentrum des Hospital Clínic Barcelona mit SRL-Monotherapie und mindestens sechs Monaten Nachbeobachtungszeit wurden eingeschlossen. Bei 19 Patienten mit einem durchschnittlichen Alter von 58 (34 –74) Jahren wurde eine SRL-Monotherapie 98,1 (49 –193) Monate nach Transplantation begonnen entweder durch Absetzen der begleitenden Immunsuppression bei SRL-basierter Behandlung oder durch Konversion einer anderen Monotherapie auf SRL. Die Nachbeobachtungszeit betrug 20,0 (6-41) Monate. Ein Patient starb mit funktionierendem Transplantat an einem hepatozellulären Karzinom, das schon vor SRL-Monotherapie diagnostiziert worden war. Es traten keine Rejektionen auf. Die SRL-Talspiegel betrugen 10,7 (4,6 –16,1) µg/L. Der Kreatininwert betrug 1,77 [1,0 –2,9] mg/dL bei Umstellung und 1,68 [0,8 – 3,3] mg/dL nach sechs Monaten sowie 1,97 [0,8–4,6] mg/dL bei der letzten Nachbeobachtungsuntersuchung; p=n.s.). Die Proteinurie stieg nicht signifikant an (333 [67– 893] vs. 890 [46–4011] mg/Tag). Es konnten keine signifikanten Veränderungen der Werte für Hämoglobin, Triglyceride oder Cholesterin beobachtet

werden. Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass SRL-Monotherapie bei ausgewählten Patienten spät nach Nierentransplantation eine machbare Alternative darstellt.

4.2.2. Sirolimus-Monotherapie in der Erhaltungsphase nach Nierentransplantation: Erfahrungen mit der Behandlung von 50 Patienten in einem Zentrum

In dieser Studie wurde die Sicherheit und Machbarkeit einer Monotherapie bei 50 nierentransplantierten Patienten evaluiert. Alle Monotherapie-Patienten mit mindestens sechs Monaten Nachbeobachtung wurden eingeschlossen. Während des ersten Monats nach Beginn der SRL-Monotherapie wurden die Patienten wöchentlich untersucht, danach monatlich. Jeder Vorstellungstermin beinhaltete eine körperliche Untersuchung und Labortests. Die durchschnittliche Therapiedauer zum Erhebungszeitpunkt betrug $34,7 \pm 14,9$ Monate. Die Zeit nach der Transplantation bis zum Beginn der Monotherapie lag bei $7,7 \pm 3,3$ Jahren. Es traten keine Rejektionen auf. Zwei Patienten starben an kardiovaskulären Komplikationen, einer an einer vor Beginn der Monotherapie diagnostizierten malignen Erkrankung sowie ein Patient an Leberversagen bei Hepatitis C. Die glomeruläre Filtrationsrate betrug $53 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ bei Beginn der Monotherapie und $50 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ nach vier Jahren. Nach vier Jahren wurde eine Proteinurie von $632 \pm 562 \text{ mg/Tag}$ verzeichnet. Es kam nicht zu signifikanten Unterschieden in Bezug auf das Lipidprofil, den Nüchternblutzucker sowie die Hämoglobinkonzentration vor und nach Beginn der Monotherapie. Daher kann erneut gefolgert werden, dass Sirolimus-Monotherapie sicher ist in einer ausgewählten Patientengruppe mit niedrigem immunologischem Risiko.

4.3. *mTOR-Inhibition als de novo Therapie in der Nierentransplantation mit marginalen Spendern*

4.3.1. Sequentielle vierfache Immunsuppression mit Sirolimus bei Transplantation mit erweitertem Spenderprofil und Spendern nach kardialem Tod

Ziel dieser Studie war die Prüfung der Durchführbarkeit und Sicherheit einer CNI-freien Immunsuppression bei Nierentransplantation von Spendern mit hohem Risiko, eine verzögerte Transplantatfunktion nach Nierentransplantation zu erleiden. 76 Nierentransplantationen mit Spendern über 60 Jahren, Spendern mit akutem Nierenversagen oder Spendern nach kardialem Tod wurden untersucht. Die Immunsuppression bestand aus Anti-Thymozyten-Globulin oder Basiliximab, Mycophenolatmofetil, Prednisolon und der verzögerten Gabe von Sirolimus ab dem 5. postoperativen Tag. Nach einem Jahr lag das Patientenüberleben bei 96,2% bzw. 95,8%, das Transplantatüberleben bei 94,2% bzw. 91,7% für Transplantate von hirntoten Spendern bzw. Spendern nach kardialem Tod. Es konnten Abstoßungsraten von 21,2% bzw. 12,4% verzeichnet werden. Eine verzögerte Transplantatfunktion trat in 21,2% bzw. 66,7% der Fälle auf. Die Kreatininclearance nach einem Jahr lag bei 58 ± 20 mL/min bzw. 56 ± 21 mL/min bei Transplantaten von hirntoten Spendern bzw. Spendern nach kardialem Tod. Die wichtigsten unerwünschten Ereignisse bestanden aus Infektionen, aber auch drei Lymphozelen, drei Urinfisteln und drei Seromen. Aus diesen Daten lässt sich folgern, dass die sequentielle Immunsuppression mit Sirolimus eine durchführbare Alternative darstellt bei Transplantation mit erweitertem Spenderspektrum.

4.3.2. Der Einfluss von Sirolimus auf die Proteinurie bei de novo Therapie nach Nierentransplantation mit erweitertem Spenderspektrum: Vergleich von zwei CNI-freien Protokollen

Ziel dieser Studie war die Evaluation der Proteinurie bei Nierentransplantation von suboptimalen Spendern mit CNI-freier Immunsuppression. Alle Patienten des Transplantationszentrums des Hospital Clínic Barcelona mit CNI-freier de novo Immunsuppression wurden eingeschlossen (n=108). Die Patienten wurden entsprechend der Immunsuppression in zwei Gruppen eingeteilt: (i) SRL-Gruppe: SRL, Prednisolon, Mycophenolatmofetil und Basiliximab; (ii) MMF-Gruppe: Prednisolon, Mycophenolatmofetil und Basiliximab. Die Nachbeobachtungszeit betrug 12 Monate. Die Spender waren etwas jünger in der SRL-Gruppe (68 vs. 71 Jahre; $p < 0,05$), das Empfängeralter unterschied sich nicht signifikant (67 vs. 65 Jahre). Das Patientenüberleben betrug in der MMF-Gruppe 88% vs. 94% in der SRL-Gruppe; dieser Unterschied war nicht statistisch signifikant. Das Ein-Jahres-Transplantatüberleben ohne Einbeziehung der Todesfälle betrug 83% in der MMF-Gruppe vs. 94% in der SRL-Gruppe. Die Rate der akuten Abstoßungen lag bei 45% in der MMF-Gruppe und 15% in der SRL-Gruppe ($p < 0,01$). Die Inzidenz der Umstellung auf einen Calcineurin-Inhibitor war deutlich höher in der MMF-Gruppe (35 vs. 5; $p < 0,05$). Die „Intention-to-treat“ Analyse ergab eine höhere Proteinurie im SRL-Arm nach 12 Monaten (SRL vs. MMF: 461 (163–6988) vs. 270 (53–3029) mg/Tag). Dieser Unterschied ließ sich nicht in der „On-therapy“ Analyse darstellen (SRL vs. MMF: 357 (199–1428) vs. 279 (53–3029) mg/Tag). Proteinurie im nephrotischen Bereich trat häufiger auf im SRL-Arm (3/33 vs. 1/75; $p = 0,049$), jedoch konnte bei

allen vier Fällen ein Zusammenhang mit entweder rekurrenter Grunderkrankung, Abstoßung oder mangelnder Adhärenz festgestellt werden. Diese Patienten wurden auf eine CNI-haltige Therapie umgestellt. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass eine SRL-basierte Therapie – verglichen mit der MMF-basierter Immunsuppression – mit akzeptablem Patienten- und Transplantatüberleben, jedoch mit einer höheren Proteinurie behaftet ist. Ein großer Teil der Patienten in der MMF-Gruppe erlitt akute Rejektionen und musste auf eine CNI-haltige Therapie umgestellt werden.

4.4. *mTOR-Inhibition und Proteinurie im Tiermodell*

mTOR-Inhibition verlangsamt den Anstieg der Proteinurie in einem Rattenmodell mit reduzierter Nephronmasse

Viele Patienten mit Nierentransplantat weisen eine Zunahme der Proteinurie auf nach Umstellung der Immunsuppression von einem Calcineurin-Inhibitor (CNI) auf einen mTOR-Inhibitor. Vorbestehende Proteinurie und schlechte Transplantatfunktion zum Zeitpunkt der Umstellung wurden als Risikofaktoren für den Anstieg der Proteinurie identifiziert. Das Ziel dieser Studie lag in der Evaluation des Einflusses von Sirolimus (SRL) auf die Nierenfunktion und die Histologie in einem Rattenmodell mit reduzierter Nephronmasse und Proteinurie. SRL-behandelte Tiere hatten am Ende der Nachbeobachtungszeit von 12 Wochen nur 50% der Menge an Urineiweißausscheidung verglichen mit den Tieren ohne SRL-Therapie ($p < 0,05$). Die SRL-Tiere wiesen außerdem weniger Glomerulosklerose, tubuläre Atrophie und Inflammation auf. In der Immunhistochemie zeigte sich, dass SRL die renale Expression von Vascular endothelial growth factor (VEGF) und seinen Rezeptoren 1 und 2 vermindert. Zusammenfassend lässt sich an diesem Modell feststellen, dass SRL die Zunahme der Proteinurie und der histologischen Läsionen aufhält in einem Modell der reduzierten Nephronmasse. Dieser Effekt wird möglicherweise durch eine reduzierte Aktivität von VEGF vermittelt.

5. Diskussion

Die Nierentransplantation ist die Therapie der Wahl für Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz. In Deutschland verfügten am 31.12.2005 mehr als 23.000 Patienten oder mehr als ein Viertel der Patienten mit Nierenersatzverfahren über ein funktionierendes Nierentransplantat (30). Die Nierentransplantation bietet im Vergleich zu den weiteren Nierenersatzverfahren Hämodialyse und Peritonealdialyse bessere Lebensqualität und besseres Patientenüberleben. So konnte gezeigt werden, dass das Mortalitätsrisiko 18 Monate nach Transplantation erheblich niedriger war im Vergleich zu Dialysepatienten – nach kurzzeitig erhöhtem Risiko in den ersten Wochen post transplantationem (31). 10 Jahre nach Transplantation leben 60-70% der Patienten, die eine Leichenniere erhalten haben (32, 33). Diese Zahl ist mit 76-90 % erheblich höher für Patienten, die eine Niere im Rahmen einer Lebendspende erhalten haben. Wichtigste Einflussfaktoren sind hier das Patientenalter zum Zeitpunkt der Transplantation und die Komorbidität. Haupttodesursachen nach Transplantation sind laut einer europäischen Studie durchgeführt von Vanrenterghem und Kollegen mit 39 % kardiovaskuläre Ereignisse, gefolgt von malignen Erkrankungen und Infektionen (34). Die in der Literatur verfügbaren Angaben über das Transplantatüberleben sind uneinheitlich. So wurden Zahlen für die Transplantatthalbwertszeit des ersten Transplantates von einem Leichenspende zwischen acht (35) und dreizehn Jahren (32) angegeben. Trotz erfreulicher Verbesserungen in Bezug auf akute Rejektionsraten im ersten Jahr nach Nierentransplantation und damit einhergehend deutlicher Zunahme der Ein-Jahres-Transplantatüberlebensraten konnte keine vergleichbare Verbesserung der Langzeitüberlebensrate von Nierentransplantaten erreicht werden (35). Für Transplantate von Lebendspendern lassen sich signifikant höhere

Transplantatüberlebenszeiten ermitteln, wobei die längsten Überlebenszeiten bei Organen von HLA-identischen Geschwistern erzielt werden können (Transplantatthalbwertszeit 27,8 Jahre laut CTS). Laut United Network for Organ Sharing UNOS haben nach zehn Jahren nur noch 40% der Empfänger einer Leichenniere ein funktionierendes Transplantat, verglichen mit 56% der Empfänger eines Organs von einem lebenden Spender. Auch bei diesen Angaben sind die Unterschiede zwischen den einzelnen Quellen hoch. Hauptursache für Transplantatverlust jenseits des ersten Jahres nach Transplantation ist mit 39 % (33) der chronische Verlust der Transplantatfunktion, klinisch charakterisiert durch chronische und progrediente Transplantatdysfunktion bis hin zum endgültigen Funktionsverlust des Organs. Histopathologisch lassen sich oft mehrere der folgenden Befunde darstellen: interstitielle Fibrose und tubuläre Atrophie und vaskuläre und chronische glomeruläre Veränderungen mit Transplantatglomerulopathie und/oder Glomerulosklerose (3, 36). Differentialdiagnostisch sollten immunologische und nicht-immunologische Entitäten in Betracht gezogen werden. Die wichtigsten unter ihnen sind: Sklerosierende nicht-spezifische tubulointerstitielle Schäden, chronische zelluläre oder humorale Rejektion, Calcineurin-Inhibitor-Toxizität, Transplantatglomerulopathie, rezidivierende oder de-novo-Glomerulopathien.

Unter den genannten Faktoren kommt der Calcineurin-Inhibitor-Toxizität als iatrogene und potentiell vermeidbare oder zumindest reduzierbare Ursache eine herausragende Bedeutung zu (11). Die antifibrotischen und antiproliferativen Eigenschaften der mTOR-Inhibitoren Sirolimus und Everolimus kombiniert mit ihrer immunsuppressiven Potenz, die es in vielen Fällen erlaubt, Calcineurin-Inhibitoren durch mTOR-Inhibitoren zu ersetzen, macht diese Immunsuppressiva zu viel versprechenden Alternativen. Darüber hinaus sind mTOR-Inhibitoren mit einer

niedrigeren Inzidenz von malignen Erkrankungen nach Organtransplantation assoziiert (37) und werden als first- oder second-line Medikamente zur Behandlung maligner Erkrankungen eingesetzt (38).

Daher erscheint es unter den o.g. theoretischen Gesichtspunkten sinnvoll, unter bestimmten Umständen die Langzeittherapie nach Nierentransplantation von Calcineurin-Inhibitoren auf einen mTOR-Inhibitor umzustellen. Diese Überlegungen führten zu den ersten Studien über die Umstellung der Medikation spät nach Nierentransplantation. Mit der von uns durchgeführten ersten Studie konnte gezeigt werden, dass die Umstellung mehrere Jahre nach Transplantation bei Patienten mit chronischer Funktionsverschlechterung des Transplantates und histologischen Zeichen der Calcineurin-Inhibitor-Toxizität möglich ist und auch zu einer Stabilisierung oder Verbesserung der Nierenfunktion führen kann (27). Hierbei zeigten sich jedoch zwei Problemfelder. Es ergaben sich einerseits Komplikationen, die direkt mit der Umstellung der Medikation in Zusammenhang standen: hierzu zählte die Erfahrung, dass das schnelle Erreichen eines adäquaten Sirolimus-Zielspiegels schwierig war sowie dass eine Ladungsdosis Sirolimus und eine zu lange Überlappungsphase der Medikation mit einem Calcineurin-Inhibitor und einem mTOR-Inhibitor zu unerwünschten Nebenwirkungen im Sinne einer Überimmunsuppression führten (z.B. Ulzerationen der Mundschleimhaut, Infektionen) (28). Dies führte zu der Empfehlung, auf eine Ladungsdosis zu verzichten und die Überlappungsphase möglichst kurz zu halten bzw. eine abrupte Umstellung durchzuführen (39). Dazu gesellte sich auch noch die Schwierigkeit, dass die Umstellung der Medikation in mindestens einem Drittel der Fälle nicht zum gewünschten Erfolg einer Stabilisierung oder Verbesserung der Transplantatfunktion führte (27). Daher führten wir eine Studie durch, deren Ziel die Ermittlung von prädiktiven Faktoren für eine erfolgreiche Umstellung bei chronischer

Allograftdysfunktion war (Kap. 4.1.1). In diese Studie wurden 59 Patienten mit chronischer Verschlechterung der Transplantatfunktion sowie histologischen Zeichen einer Calcineurin-Inhibitor-Toxizität ohne Hinweis für eine akute Rejektion im Durchschnitt 84 Monate nach Transplantation eingeschlossen. Hierbei zeigten 54% der Patienten eine Stabilisierung oder Verbesserung der Nierenfunktion nach einem Jahr. Prädiktive Faktoren für ein positives Ergebnis waren die Höhe der Proteinurie bei Umstellung, die Anzahl der akuten Rejektionen vor Umstellung und der Grad der chronischen Schädigung entsprechend der damals gültigen BANFF-Klassifikation (40) und der chronischen vaskulären Schädigung. In einer multivariaten Analyse blieb als einziger unabhängiger Faktor die Proteinurie zur Zeit der Umstellung übrig. Eine Proteinurie von weniger als 800 mg/Tag besaß einen positiven prädiktiven Wert von 90% für die Stabilisierung oder Verbesserung der Nierenfunktion nach einem Jahr. In diesem Zusammenhang soll erwähnt werden, dass die Proteinurie nach Nierentransplantation einen prädiktiven Marker für das Transplantatüberleben darstellt (21) und letztendlich als ein Surrogatparameter für einen schon bestehenden strukturellen Schaden einer transplantierten Niere angesehen werden muss. Somit wird klar, dass die Umstellung bei nur geringer Proteinurie als erfolgreiche Variante einer Umstellung bei guter Organqualität zum Zeitpunkt der Umstellung entspricht. Im Vergleich zu anderen Studien, bei denen der Calcineurin-Inhibitor abgesetzt und durch ein anderes Medikament ersetzt wurde (z.B. Mycophenolatmofetil oder Azathioprin) resultierte in unserer Studie keine erhöhte Rejektionsrate (41). Der Nachteil unserer Studie lag in einer fehlenden Kontrollgruppe und einer eher heterogenen Studienpopulation. In der CONVERT-Studie mit Kontrollgruppe und besser definierter Studiengruppe konnten die in unserer Studie erhobenen Erkenntnisse prinzipiell bestätigt werden (42). Auch hier zeigte sich, dass der Proteinurie eine zentrale Rolle als prädiktiver Marker für ein

positives Ergebnis zufällt. Darüber hinaus stimmt diese Einschätzung mit den Erklärungen von Chapman und Mitarbeitern überein, die davon ausgehen, dass eine transplantierte Niere im Laufe ihrer funktionsfähigen Zeit ständig chronischen Schädigungen ausgesetzt sind, die nach einer gewissen Latenzzeit zu einer Verschlechterung schon vorbestehender histologisch nachweisbarer Schäden oder aber zum Neuauftreten von histologischen Schäden führt, lange bevor diese zu einer Verschlechterung der Kreatininwerte oder der Proteinurie führen. Wenn dann schließlich bei einer Verschlechterung der Kreatininwerte interveniert wird, ist oft nur noch wenig funktionierende Nephronmasse übrig, die es zu konservieren gilt. Daher ist dann im besten Fall auch nur mit einer leichten Verbesserung der Nierenfunktion zu rechnen. Unsere im Jahr 2004 veröffentlichten Ein-Jahres-Daten (Kap. 4.1.1) und insbesondere die Proteinurie bei Umstellung als wichtiger Prädiktor für das langfristige Ergebnis konnten schließlich im Rahmen einer Folgestudie mit fünf Jahren Nachbeobachtungszeit bestätigt werden (Kap. 4.1.2). Proteinurie ist als Risikofaktor für Transplantatverlust in mehreren Studien identifiziert worden (19, 20, 21). Darüber hinaus konnten wir in einer eigenen Studie zeigen, dass die Konversion von einem Calcineurin-Inhibitor auf Sirolimus bei Patienten mit chronischer Verschlechterung der Transplantatfunktion zu einer signifikanten Zunahme der Proteinurie führte (Kap. 4.1.3). Ähnliche Beobachtungen konnten auch schon von Letavernier und Mitarbeitern gemacht werden (43). Die in unserer Studie beobachtete Zunahme der Proteinurie betraf nicht nur die Patienten mit schon vorbestehender Proteinurie, sondern auch etwa ein Drittel der Patienten, die bei Konversion eine Proteinurie unter 300 mg/Tag aufwiesen, obwohl die Patienten mit vorbestehender Proteinurie eher eine Zunahme derselben zu verzeichnen hatten. Im Rahmen dieser Studie konnte auch beobachtet werden, dass ein Anstieg der Proteinurie um mehr als 500 mg/Tag innerhalb der ersten sechs Monate nach

Konversion mit einer schlechteren Nierenfunktion assoziiert war als kein oder ein geringerer Anstieg. Somit konnte gezeigt werden, dass nicht nur die Proteinurie an sich, sondern auch der übermäßige Anstieg nach Konversion ein negativer Prädiktor für die Entwicklung der weiteren Transplantatfunktion ist.

Im Rahmen der Konversionsstudien von Calcineurin-Inhibitoren auf Sirolimus wurden auch einige Patienten von einer Calcineurin-Inhibitor-Monotherapie auf eine Sirolimus-Monotherapie umgestellt. Da diese Art der Minimierung der Immunsuppression mit einem günstigen Nebenwirkungsprofil assoziiert war, führten wir eine Machbarkeitsstudie durch. 19 Patienten mit Sirolimus-Monotherapie, die bei allen Patienten im 5. Jahr nach Nierentransplantation oder später begonnen worden war, entweder nach Konversion von CNI-Monotherapie oder nach Minimierung der Immunsuppression eines SRL-basierten Protokolls wurden identifiziert und nachbeobachtet. Hierbei konnte demonstriert werden, dass in einer ausgewählten Gruppe von Patienten mit niedrigem immunologischen Risiko zumindest in einer relativen kurzen durchschnittlichen Nachbeobachtungszeit SRL-Monotherapie sicher in Bezug auf akute Abstoßungen und die Inzidenz von Nebenwirkungen war (Kap. 4.2.1). Diese Daten konnten später an einem Kollektiv von 50 Patienten mit längerer Nachbeobachtungszeit bestätigt werden (Kap. 4.2.2).

Über die Arbeit mit Sirolimus im Rahmen der Konversion mehrere Jahre nach Nierentransplantation hinaus wurde im Rahmen der durchgeführten Studien auch die Anwendung von Sirolimus bei Patienten demonstriert, die eine Niere von einem Spender mit erweitertem Spektrum erhielten. Hierbei zeigte sich, dass Sirolimus eine Therapieoption darstellt in der de novo Therapie bei Transplantatempfängern, die Nieren von Spendern eines erweiterten Spektrums erhielten: Spendern nach kardialem Tod, Spendern mit akutem Nierenversagen und Spender über 60 Jahre. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass Sirolimus erfolgreich angewendet werden

kann, bei Transplantatempfängern, die aufgrund der Qualität der erhaltenen Niere ein hohes Risiko einer verzögerten Funktionsaufnahme des Transplantates haben. Im Rahmen dieser Studie wurde die Sirolimustherapie erst am 5. postoperativen Tag begonnen. Dies führte auch zur Vermeidung einer hohen Inzidenz von chirurgischen und urologischen Komplikationen (Kap. 4.3.1), die sonst häufiger in der novo Therapie mit Sirolimus auftreten als mit Calcineurin-Inhibitoren (44). Auch zeigte sich, dass es bei diesem Protokoll der verzögerten Sirolimustherapie die Inzidenz der verzögerten Transplantatfunktion nicht höher war als in vergleichbaren Studien mit Calcineurin-Inhibitoren.

Da im Bereich der späten Konversion von Calcineurin-Inhibitoren auf Sirolimus eine Zunahme der Proteinurie in vielen Fällen zu beobachten war, führten wir eine Studie durch, deren Ziel die Evaluation des Einflusses von Sirolimus auf die Proteinurie in der de novo Therapie ohne Calcineurin-Inhibitoren war. Hierzu wurde ein Behandlungsarm mit CNI-freier Therapie basierend auf Mycophenolatmofetil verglichen mit einem Sirolimus-basierten Arm. Es resultierte eine erhöhte Inzidenz von Proteinurie im nephrotischen Bereich im Sirolimus-Arm (Kap. 4.3.2). Andererseits ergab sich kein signifikanter Unterschied im Vergleich der Patienten, die auf der ursprünglichen Behandlung geblieben waren. Dabei wurde SRL bei drei Patienten abgesetzt, während 45% der Patienten in der MMF-Gruppe wegen akuter Rejektion auf eine Calcineurin-Inhibitor-basierte Therapie umgesetzt werden mussten.

In einer weiteren Arbeit wurde der Einfluss der mTOR-Inhibition auf die schon zuvor entwickelte Proteinurie in einem Rattenmodell untersucht. Ratten mit reduzierter Nephronmasse, die im Verlauf von mehreren Wochen neben der eingeschränkten Kreatininclearance auch eine Proteinurie entwickeln, wurden ab der sechsten Woche mit Sirolimus behandelt. Hierbei zeigte sich überraschenderweise eine konstant

unveränderte Proteinurie im SRL-Arm und eine signifikante weitere Zunahme der Proteinurie im Kontrollarm (Kap. 4.4). Dieser protektive Effekt ging einher mit einer erniedrigten Expression von VEGF in der Niere sowie der Rezeptoren VEGF-R1 und -R2 und außerdem mit einer Reduktion des Ausmaßes von interstitieller Inflammation. Das bedeutet, dass obwohl in klinischen Studien Sirolimus mit einer Zunahme der Proteinurie assoziiert werden konnte, zeigte es in diesem Rattenmodell einen protektiven Effekt. Auch in einem anderen Rattenmodell mit Proteinurie konnte ein ähnlicher protektiver Effekt demonstriert werden (45).

Aus den vorliegenden Erkenntnissen lässt sich folgern, dass die mTOR-Inhibition eine sinnvolle Alternative zur Behandlung mit Calcineurin-Inhibitoren darstellen kann, sofern sie zur Anwendung gebracht werden kann in einer Phase, in der möglichst wenig struktureller Schaden in der Niere vorhanden ist. Hierbei dient die Proteinurie als ein zusätzlich verlässlicher klinischer Entscheidungsparameter.

Sirolimustherapie kann zu einer Zunahme der Proteinurie bei transplantierten Patienten führen. Andererseits entfaltet Sirolimus eine protektive Wirkung in einem Rattenmodell der Niereninsuffizienz mit reduzierter Nephronmasse.

Ausblick

Aktuell werden Therapieoptionen geprüft, die die immunsuppressive Potenz der Calcineurin-Inhibitoren in der Frühphase nach Nierentransplantation mit dem günstigen Wirk- und Nebenwirkungsprofil bezüglich der Erhaltungsphase kombinieren. Möglicherweise wird die Therapie nach Nierentransplantation in Zukunft über den zeitlichen Verlauf der Früh- und Erhaltungsphase dem jeweils vorherrschenden Risikoprofil angepasst und ggf. individualisiert werden, um bessere Langzeit-Ergebnisse zu erzielen. Das bisherige Standardkonzept aus Calcineurin-

Inhibitor und Antimetabolit mit oder ohne Steroid, das bisher bei der Mehrzahl der Patienten über viele Jahre nach Nierentransplantation angewendet wird ohne adäquate Anpassung an das individuelle Risikoprofil des Patienten, wird möglicherweise schon bald der Vergangenheit angehören.

6. Zusammenfassung

Trotz Verbesserung der Ein-Jahres-Überlebensraten nach Nierentransplantation gehen im Rahmen des chronischen Funktionsverlustes 39% der Transplantate verloren. Nur der Tod mit funktionierendem Transplantat – am häufigsten in Zusammenhang mit kardiovaskulären Ereignissen oder malignen Erkrankungen - stellt eine häufigere Ursache des Transplantatverlustes dar. Die Calcineurin-Inhibitoren tragen aufgrund ihres Nebenwirkungsprofils zu einer chronischen Schädigung des Transplantates und zur Entstehung kardiovaskulärer und maligner Erkrankungen nach Transplantation bei. Daher ist der Ersatz des Calcineurin-Inhibitors durch einen nicht-nephrotoxischen mTOR-Inhibitor, der darüber hinaus noch mit einer niedrigeren Inzidenz maligner Erkrankungen nach Transplantation assoziiert ist, unter bestimmten Umständen eine sinnvolle Alternative. Problematisch ist die Umstellung in einer Phase fortgeschrittener chronischer Allograftdysfunktion. Aufgrund einer andernfalls hohen Rate an Nebenwirkungen ist die schnelle Umstellung ohne lange Überlappungszeitraum von Calcineurininhibitor und mTOR-Inhibitor sinnvoll. Im Laufe der letzten Jahre konnte gezeigt werden, dass der frühe Ersatz des Calcineurin-Inhibitors durch einen mTOR-Inhibitor im Sinne einer Prävention des Funktionsverlustes Erfolg versprechender ist als die späte Umstellung im Sinne einer „rescue“-Therapie.

7. Literaturverzeichnis

1. ANZDATA Registry Report 2004. Edited by McDonald S, Excell L. Australia and New Zealand Dialysis and Transplant Registry, Adelaide, Australia.
2. Meier-Kriesche HU, Schold JD, Srinivas TR, Kaplan B. Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era. *Am J Transplant* 2004; 4: 378-383.
3. Chapman JR, O'Connell PJ, Nankivell BJ. Chronic renal allograft dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 3015-3026.
4. Pascual M, Swinford RD, Ingelfinger JR, Williams WW, Cosimi AB, Tolkoff-Rubin N. Chronic rejection and chronic cyclosporin toxicity in renal allografts. *Immunol Today* 1998;19:514-519.
5. Remuzzi G, Perico N. Cyclosporine-induced renal dysfunction in experimental animals and humans. *Kidney Int Suppl* 1995; 52:S70-S74.
6. Myers BD, Newton L. Cyclosporine-induced chronic nephropathy: an obliterative microvascular renal injury. *J Am Soc Nephrol* 1991;2:Suppl 1:S45-S52.
7. Bertani T, Ferrazzi P, Schieppati A, et al. Nature and extent of glomerular injury induced by cyclosporine in heart transplant patients. *Kidney Int* 1991;40:243-250.
8. Solez K, Vincenti F, Filo RS. Histopathologic findings from 2-year protocol biopsies from a U.S. multicenter kidney transplant trial comparing tacrolimus versus cyclosporine: a report of the FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation* 1998; 66:1736-40.
9. Bennett WM. Insights into chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1996;34:515-519.

10. Davies DR, Bittmann I, Pardo J. Histopathology of calcineurin inhibitor-induced nephrotoxicity. *Transplantation* 2000;69: Suppl:SS11-SS13.
11. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Allen RD, Chapman JR. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med* 2003; 349: 2326-2333.
12. Beveridge T, Calne RY. Cyclosporine (Sandimmun) in cadaveric renal transplantation: ten-year follow-up of a multicenter trial. *Transplantation* 1995;59:1568-70.
13. Mihatsch MJ, Ryffel B, Gudat F. The differential diagnosis between rejection and cyclosporine toxicity. *Kidney Int Suppl* 1995; 52:S63-S69.
14. Solez K, Vincenti F, Filo RS. Histopathologic findings from 2-year protocol biopsies from a U.S. multicenter kidney transplant trial comparing tacrolimus versus cyclosporine: a report of the FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation* 1998; 66:1736-40.
15. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Sis B, Halloran PF, Birk PE, Campbell PM, Cascahlo M, Collins AB, Demetris AJ, Drachenberg CB, Gibson IW, Grimm PC, Haas M, Lerut E, Liapis H, Manon RB, Marcus PB, Mengel M, Mihatsch MJ, Nankivell BJ, Nickleit V, Papadimitriou JC, Platt JL, Randhawa P, Robert I, Salinas-Madriga L, Salomon DR, Seron D, Sheaff M, Weening JJ. Banff '05 Meeting Report: Differential Diagnosis of Chronic Allograft Injury and Elimination of Chronic Allograft Nephropathy ('CAN'). *Am J Transplant* 2007; 7: 518-526.
16. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Chapman JR, Allen RD: Delta analysis of posttransplantation tubulointerstitial damage. *Transplantation* 78: 434 – 441, 2004.

17. Lee PC, Terasaki PI, Takemoto SK, Lee PH, Hung CJ, Chen YL, Tsai A, Lei HY. All chronic rejection failures of kidney transplants were preceded by the development of HLA antibodies. *Transplantation* 2002; 74: 1192–1194.
18. Jin YP, Jindra PT, Gong KW, Lepin EJ, Reed EF: Anti-class I antibodies activate endothelial cells and promote chronic rejection. *Transplantation* 2005; 79: S19 –S21.
19. Halimi, Laouad I, Büchler M, Al-Najjar A, Chatelet V, Houssaini TS, Nivet H, Lebranchu Y. Early low-grade proteinuria: Causes, short-term evolution and long-term consequences in renal transplantation. *Am J Transpl* 2005; 5: 2281-2288.
20. Amer H, Fidler ME, Myslak M, Morales P, Kremers WK, Larson TS, Stegall MD, Cosio FG. Proteinuria after kidney transplantation, relationship to allograft histology and survival. *Am J Transpl* 2007; 7: 2748-2756.
21. Roodnat JI, Mulder PGH, Rischen-Vos J, van Riemsdijk IC, van Gelder T, Zietse R, Ijzermans JNM, Weimar W. Proteinuria after renal transplantation affects not only graft survival but also patient survival. *Transplantation* 2001; 72: 438-444.
22. Hourmant M, Cesbron-Gautier A, Terasaki PI, Mizutani K, Moreau A, Meruette A, Dantal J, Giral M, Blancho G, Cantarovich D, Karam G, Follea G, Souillou JP, Bignon JD. Frequency and clinical implications of development of donor-specific and non-donorspecific HLA antibodies after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 2804-2812.
23. Sehgal SN, Baker H, Vezina C. Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. II. Fermentation, isolation and characterization. *J Antibiot* 1975; 28: 727–732.

24. Sehgal SN, Molnar-Kimber K, Okain TD, Weichman BO. Rapamycin: A novel immunosuppressive macrolide. *Med Res Rev* 1994; 14: 1–22.
25. Hofbauer LC, Shui C, Riggs BL et al. Effects of immunosuppressants on receptor activator of NF-kappaB ligand and osteoprotegerin production by human osteoblastic and coronary artery smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 280: 334–339.
26. Schoppet M, Preissner KT, Hofbauer LC. RANK ligand and osteoprotegerin: Paracrine regulators of bone metabolism and vascular function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 549–553.
27. Diekmann F, Waiser J, Fritsche L, Dragun D, Neumayer HH, Budde K. Conversion to rapamycin in renal allograft recipients with biopsy-proven calcineurin inhibitor-induced nephrotoxicity. *Transplant Proc.* 2001; 33: 3234-3235.
28. Diekmann F, Fritsche L, Neumayer HH, Budde K. Sirolimus Dosage during and after Conversion from Calcineurin Inhibitor Therapy to Sirolimus in Chronic Kidney Transplant Patients. *Kidney Blood Press Res* 2004; 27: 186-190.
29. Saurina A, Campistol JM, Lario S, Oppenheimer F, Diekmann F. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus in kidney transplant patients reduces the urinary transforming growth factor-beta1 concentration. *Transplant Proc* 2007; 39: 2138-2141.
30. Frei U, Schober-Halstenberg HJ. Nierenersatztherapie in Deutschland.
www.quasi-niere.de

31. Wolfe RA, Ashy VB, Milforg EL, Ojo AO, Etenber RE, Agodoa LYC, Held PJ, Port FK. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med* 1999; 341: 1725-1730.
32. www.ctstransplant.org
33. www.unos.org
34. Vanrenterghem YFC, Clase K, Montagnino G, fieuws S, Maes B, Villa M, Poniticelli C. Risk factors for cardiovascular events after successful renal transplantation. *Transplantation* 2008; 85: 209-216.
35. Meier-Kriesche HU, Schold JD, Srinivas TR, Kaplan B. Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era. *Am J Transplant* 2004; 4: 378-383.
36. Solez K, Colvin RB, Racusen LC et al. Banff '05 Meeting report: Differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy ('CAN'). *Am J Transplant* 2007; 7: 518-526.
37. Kauffman HM, Cherikh WS, Cheng Y, Hanto DW, Kahan BD. Maintenance Immunosuppression with Target-of-Rapamycin Inhibitors is Associated with a Reduced Incidence of De Novo Malignancies. *Transplantation* 2005; 80: 883-889.
38. Hudes G, Carducci M, Tomczak P, Dutcher J, Figlin R, Kapoor A, Stroszawska E, Sosman J, McDermott D, Bodrogi I, Kovacevic Z, Lesovoy V, Schmidt-Wolf IGH, Barbarash O, Gokmen E, O'toole T, Lustgarten S, Moore L, Motzer RJ. Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356: 2271-2281.

39. Diekmann F, Campistol JM. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus in chronic allograft nephropathy. Benefits and risks. *Nephrol Dial Transpl* 2006; 21: 562-568.
40. Racusen LC, Solez K, Colvin RB et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999; 55: 713–722.
41. Helderma JH, Van Buren DH, Amend WJ Jr, Pirsch JD. Chronic immunosuppression of the renal transplant patient. *J Am Soc Nephrol* 1994; 4 (8 Suppl): S2–S9.; del Castillo D, Abramowicz D, Manas D et al. Benefits of cyclosporine (CsA) withdrawal in stable renal transplant recipients, receiving mycophenolate mofetil (MMF) and steroids (S): a multicenter, randomised, controlled study. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 726A.
42. Schena FP, Pascoe MD, Alberu J, del Carmen Rial M, Oberbauer R, Brennan DC, Campistol JM, Racusen L, Polinsky MS, Goldberg. Albers, Li J, Scarola J, Neylan J; for the Sirolimus CONVERT Trial Study Group. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus maintenance therapy in renal allograft recipients: 24-month efficacy and safety results from the CONVERT trial. *Transplantation* 2009; 87: 233-242.
43. Letavernier E, Pe'raldi MN, Pariente A, Morelon E, Legendre C. Proteinuria following a switch from calcineurin inhibitors to sirolimus. *Transplantation* 2005; 80: 1198–1203.
44. Mehrabi A, Fonouni H, Wente M, Sadeghi M, Eisenbach C, Encke J, Schmied BM, Libicher M, Zeier M, Weitz J, Büchler MW, Schmidt J. Wound complications following kidney and liver transplantation. *Clin Transplant*. 2006;20 Suppl 17:97-110.

45. Bonegio RG, Fuhro R, Wang Z, Valeri CR, Andry C, Salant DJ, Lieberthal W. Rapamycin ameliorates proteinuria-associated tubulointerstitial inflammation and fibrosis in experimental membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2005; 16: 2063-72.

8. Eidesstattliche Erklärung

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.
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Berlin, 27.01.2009


Dr. med. Fritz Diekmann

9. Danksagung

Allen Personen, die im Laufe der Jahre meine Arbeit und mich unterstützt und gefördert haben, möchte ich an dieser Stelle danken.

Mein ganz besonderer Dank gilt Prof. Dr. Hans-Hellmut Neumayer, Prof. Dr. Klemens Budde und ganz besonders auch meinem Mentor in Barcelona, Prof. Dr. Josep M. Campistol, die mich zu jeder Zeit maßgeblich unterstützt und motiviert haben und mir viele Ressourcen zur Verfügung gestellt haben, die für die Durchführung der Arbeit notwendig waren. Ihnen, letztendlich aber allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Nephrologie der Charite Campus Mitte in Berlin und der Klinik für Nephrologie des Hospital Clínic in Barcelona verdanke ich auch einen großen Teil meiner klinischen Ausbildung.

Ganz besonders erwähnen möchte ich auch meinen Freund und Kollegen Dr. Jordi Rovira, ohne dessen tatkräftige Unterstützung die experimentellen Arbeiten nicht zustande gekommen wären. Herrn Privatdozent Dr. Stanislao Morgera danke ich für seine Unterstützung als klinischen Lehrer und besonders auch als guten Freund.

Mein Freund und Studienkollege Herr Rüdiger Zart ist maßgeblich dafür verantwortlich, dass ich den Weg in die Nephrologie gefunden habe. Dafür möchte ich mich bei ihm bedanken.

Meine Eltern, Marianne und Dr. Wolf-Dieter Diekmann, und meine gesamte Familie haben mich geprägt und mir ermöglicht, diesen Weg zu gehen. Das werde ich nie vergessen, und dafür bin ich sehr dankbar.

Meine Frau Christine und meine Tochter Laia sind dabei für mich die wichtigsten Menschen. Sie unterstützen mich jeden Tag. Ohne ihre Hilfe und Liebe könnte ich meine Kraft und Energie nicht einem derartigen Projekt widmen.