

Aus dem

CharitéCentrum für Innere Medizin

Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Nephrologie und Internistische Intensivmedizin

Kommissarische Leitung: Prof. Dr. A. Jörres, Prof. Dr. R. Schindler

Habilitationsschrift

Untersuchungen zum Abstoßungs- und Infektionsrisiko nach Nierentransplantation

zur Erlangung der *venia legendi*

für das Fach Innere Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Peter Nickel

geboren in Berlin

Eingereicht: 12/2014

Dekanin: Frau Prof. Dr. Annette Grüters-Kieslich

1. Gutachter: Prof. Dr. Ulrich Kunzendorf, Kiel

2. Gutachter: Prof. Dr. Ingeborg A. Hauser, Frankfurt

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	4
1.1. Nierentransplantationsergebnisse und immunsuppressive Therapie	5
1.2. Abstoßungsreaktionen als häufigste Ursache des chronischen Transplantatversagens ohne Tod des Patienten	12
1.3. BKV-Infektionen nach Nierentransplantation	13
1.4. Pneumocystis jirovecii-Pneumonie	14
1.5. Mannose-bindendes Lektin	15
1.6. Fragestellungen der vorliegenden Arbeiten	16
2. Eigene Arbeiten	17
2.1. Frequenzen Donor-reaktiver T-Zellen im peripheren Blut sind Prädiktoren von Abstoßungsereignissen und Nierentransplantatfunktion nach 6 und 12 Monaten	17
2.2. Identifizierung von Patienten auf der Warteliste zur Nierentransplantation mit Panel-reaktiven Effektor-/Memory-T-Zellen	25
2.3. Frequenzen Donor-reaktiver T-Zellen im peripheren Blut korrelieren mit der Transplantatfunktion in der Spätphase nach Nierentransplantation	34
2.4. Defizienz des Mannose-bindenden Lektins ist nicht mit erhöhtem Risiko für Polyomavirus-Nephropathie assoziiert	46
2.5. Eingeschränkte Thymusfunktion und CD4+ T Lymphopenie, aber nicht eine Defizienz des Mannose-bindenden Lektins, sind Risikofaktoren für Pneumocystis jirovecii-Pneumonien nach Nierentransplantation	52
2.6. Clindamycin und Primaquin in der Therapie der Pneumocystis jirovecii- Pneumonie bei Nierentransplantierten	58
3. Diskussion	68
4. Zusammenfassung	82
5. Literaturverzeichnis	84
6. Danksagung	95
7. Eidesstattliche Erklärung	96

Abkürzungsverzeichnis

APZ	Antigen-präsentierende Zellen
ATN	akute Tubulusnekrose
CMV	Cytomegalovirus
CNI	Calcineurininhibitoren
C-P	Clindamycin / Primaquin
CTLA-4	Cytotoxic T Lymphocyte-associated Antigen 4
DSA	Donor-spezifische (HLA-) Antikörper
EBV	Epstein-Barr-Virus
ELISPOT	Enzyme-linked immunosorbent spot
ERBP	European Renal Best Practice
FKBP	FK506-bindendes Protein
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
HLA	Human Leucocyte Antigen
IE-1	immediate early-1
IL2-RA	IL2-Rezeptorantagonisten
JAK-3	Januskinase 3
KDIGO	Kidney Disease: Improving Global Outcomes
KDOQI	Kidney Disease Outcomes Quality Initiative
MBL	Mannose-bindendes Lektin
MHC	Major Histocompatibility Complex
MLR	Mixed Lymphocyte Reaction
MPA	Mycophenolsäure, Derivat Mycophenolat Mofetil
mTOR	Mammalian Target of Rapamycin
NFAT	Nuclear Factor of activated T-cells
NFκB	Nuclear Factor Kappa B
PBMC	Mononukleäre Zellen des peripheren Blutes
PjP	Pneumocystis jirovecii-Pneumonie
PRA	Panel Reactive Antibody
PRR	Pattern Recognition Receptor
PRT	Panel of Reactive T cells
PTLD	Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder
RTE	Recent Thymus Emigrants
SRL	Sirolimus
TMP/SMX	Trimethoprim/Sulfamethoxazol

1. Einleitung

Die Nierentransplantation zeigt in großen retrospektiven Analysen überlegene Morbidität, Mortalität, Lebensqualität sowie geringere Kosten gegenüber Dialyseverfahren und ist daher für geeignete Patienten die Nierenersatztherapie der Wahl [1-3]. In Deutschland sind weniger als 1/3 der terminal niereninsuffizienten Patienten nierentransplantiert, während ca. 71.000 Patienten mit Dialyseverfahren behandelt werden [4, 5]. Durch den zunehmenden Organspendermangel nahmen die Transplantationszahlen in den letzten Jahren weiter ab [5-7]. Im Jahr 2013 waren es 2270 Nieren (davon 725 nach Lebendspende) bei insgesamt 7900 Patienten auf der Warteliste [5-7].

Das Organüberleben nach Nierentransplantation konnte in den letzten Jahrzehnten vor allem in der Frühphase kontinuierlich verbessert werden [8, 9]. Neben vielen anderen Errungenschaften konnte dies vor allem durch die Beherrschung von frühen Rejektionen durch die modernen Immunsuppressiva erreicht werden [8, 9]. Die heutzutage noch auftretenden frühen Transplantatverluste beruhen neben Rejektionen auf primärer Funktionslosigkeit, rekurrenter Grunderkrankung, Polyomavirus-assoziiertes Nephropathie, Sepsis/Hypotension und Pyelonephritis [10-13].

Trotz der hervorragenden Ergebnisse der Frühphase blieb der Einfluss auf die Langzeit-Transplantatüberlebensraten nach dem ersten Jahr vergleichsweise gering [8, 9]. Während in Deutschland gegenwärtig 94,4% der Organe nach einem Jahr funktionieren, beträgt die Fünf-Jahres-Funktionsrate 87,5% für Lebendspenden und 70,9% für postmortal gespendete Nieren [6, 7]. Der Tod von Patienten mit funktionierendem Transplantat macht dabei in der Spätphase nach Transplantation weiterhin einen Großteil der Organverluste aus [8 -10].

Angesichts des zunehmenden Mangels an Spenderorganen, steigender Wartezeiten auf ein Transplantat und häufig geminderter Organqualität ist die Suche nach Strategien zur Optimierung der Langzeit-Transplantationsergebnisse dringlich und hochaktuell. In den letzten Jahren wurden durch histologische Untersuchungen Abstoßungsreaktionen als Hauptursache des chronischen Transplantatversagens ohne Tod des Patienten identifiziert, während die lange Zeit favorisierte Calcineurininhibitor-induzierte Nephrotoxizität in den betreffenden Studienresultaten zumindest keine zentrale Rolle spielte [14-18]. Damit wurden Grenzen von unselektiven Minimierungsstrategien der immunsuppressiven Therapie aufgezeigt. Eine Optimierung der Langzeittransplantationsergebnisse könnte zukünftig durch den Einsatz von Biomarkern zur Erfassung des immunologischen Risikos möglich werden [19]. Hochrisikopatienten könnten engermaschiger kontrolliert und frühzeitig eine Intervention erhalten, während Niedrigrisikopatienten von zu intensiver Immunsuppression und damit erhöhtem Infektions- und Malignomrisiko verschont blieben [19].

T-Zellen spielen eine zentrale Rolle als Effektoren der Alloimmunantwort und sind Angriffsort der modernen immunsuppressiven Therapie [19]. Medawar und Gibson entdeckten erstmals bei Verbrennungsoptionen in den 40er Jahren des 20. Jahrhunderts die Bedeutung des immunologischen Gedächtnisses [20]. Sie beobachteten, dass eine zweite Serie von allogenen Hauttransplantaten in einem vortransplantierten Patienten deutlich rascher und heftiger abgestoßen wurde als die ersten Transplantate [20]. Die Charakterisierung und Quantifizierung alloreaktiver Gedächtnis-T- und B-Zellantworten ist daher ein lange verfolgtes Ziel der Transplantationsmedizin [19]. Während humorale Gedächtnisantworten mittels der HLA-Antikörpertechniken schon frühzeitig zur Vorhersage des immunologischen Risikos detektiert werden konnten, stand für die zellulären Gedächtnisantworten erst um die Jahrtausendwende mit dem Enzyme-linked Immunosorbent Spot (Elispot)-Test eine routinefähige Methode zur Quantifizierung alloreaktiver T-Zellfrequenzen im peripheren Blut zur Verfügung, dessen klinische Einsatzfähigkeit wir testeten [19, 21].

Ein hochdosierte immunsuppressive Therapie in Nierentransplantationspatienten birgt das Risiko zunehmender Infekte und Malignome sowie kardiovaskulärer Komplikationen [8, 11]. Beispielhafte Infektionserkrankungen sind die Polyomavirus-Nephropathie und die Pneumocystis jirovecii-Pneumonie (PjP), deren Inzidenzen in der Ära der modernen Immunsuppression zugenommen haben und die Transplantat- bzw. Patientenüberleben beeinträchtigen. Im zweiten Teil der Arbeit wurden Risikofaktoren für das Auftreten dieser Erkrankungen untersucht. Zudem wurden erstmals in einer retrospektiven Arbeit mit Einschluß aller Nierentransplantierten der Charité, die zwischen 2001 und 2010 eine PjP entwickelten, Effektivität und Sicherheit der Therapiealternative Clindamycin und Primaquin im Vergleich zum Therapiestandard Trimethoprim/Sulfamethoxazol (TMP/SMX) verglichen.

1.1. Nierentransplantationsergebnisse und immunsuppressive Therapie

Historischer Überblick

Nach der Einführung von Azathioprin und Steroiden lag Mitte der 1960er Jahre das Ein-Jahres Transplantatüberleben in der postmortalen Spende bei 50% nach einem Jahr und bei bis zu 80% bei der Lebendspende [21]. Unter Einsatz neuer Methoden für Organpräservierung, Gewebetypisierung, HLA-Matching und teilweise auch depletierender anti-Lymphozytenantikörper zeigten die 1970er und 1980er Jahre rückläufige Inzidenzen akuter Rejektionen und schwerer Infektionen mit verbessertem Patienten- und Organüberleben [21-23]. Die Einführung des ersten Calcineurininhibitors (CNI) Ciclosporin Anfang der 1980er Jahre war ein entscheidender Fortschritt [22]. Der noch effektivere CNI Tacrolimus, der Proliferationshemmer Mycophenolat Mofetil (Mycophenolsäure, MPA),

Sirolimus (SRL) als erster mammalian Target of Rapamycin (mTOR)-Inhibitor sowie IL2-Rezeptorantagonisten (IL2-RA) wurden in den 1990er Jahren eingesetzt [24]. Nachdem akute Rejektionen Ende der 1990er Jahre nur noch in einer Minderheit der Patienten auftraten (1996 24% im ersten Jahr), aber die Langzeitergebnisse unbefriedigend blieben, gerieten einerseits subklinische, d.h. nicht mit einem Kreatininanstieg assoziierte Rejektionen, andererseits nicht-immunologische transplantatschädigende Faktoren in den Fokus [24-33]. Protokollbiopsien konnten frühe subklinische Rejektionen nachweisen, die mit histologischem Schaden und reduziertem Transplantatüberleben assoziiert waren [28-33]. Dennoch lassen die wenigen randomisierten Studien bis heute keine eindeutige Aussage zum Benefit von Protokollbiopsien zu [25, 34, 35].

Bereits kurz nach der Einführung von Ciclosporin in den 1980er Jahren wurden bei Herztransplantierten Nierenfunktionseinschränkungen unter Ciclosporin beobachtet [36]. CNI-Nephrotoxizität tritt einerseits akut und reversibel durch Veränderungen des Gefäßwiderstandes auf, andererseits durch einen irreversiblen Nierenarchitekturschaden, der vor allem durch muskuläre arterioläre Hyalinose gekennzeichnet ist [37, 38]. Heutzutage ist belegt, dass hyaline Arteriopathie auch unabhängig von CNI mit Spenderfaktoren, Hypertonie, unspezifischen Alterungsprozessen, HLA-Mismatch und Ischämie assoziiert ist [39, 40].

Im Jahre 1993 wurde die chronische Transplantatnephropathie in die internationale Banff-Klassifikation der Nierentransplantatpathologie aufgenommen, definiert als interstitielle Fibrose, Tubulusatrophie, Vaskulopathie mit Intimafibrose und Glomerulosklerose [41]. Hiermit sollte der kumulative Schaden dargestellt werden, der meist tubulointerstitiell mit dem Ischämie/Reperfusionsschaden beginnt und über multiple Pathomechanismen wie zelluläre und humorale Rejektionen, Hypertonie, Infektionen, Rekurrenz der Grunderkrankung und CNI-Toxizität fortschreitet [41].

Nachdem Nankivell et al. 2003 in seriellen Nierentransplantatbiopsien von kombinierten Nieren- und Pankreastransplantatempfängern kaum chronische Inflammation oder Rejektion, jedoch nach zehn Jahren vor allem dem Ciclosporin zugeschriebene Schäden gefunden hatten, wurden CNI als ungeeignet für die Langzeittherapie angesehen und auch angesichts der Nebenwirkungen wie Diabetes, Hypertonie und Hyperlipoproteinämie große Hoffnungen auf Minimierungsstrategien gesetzt [9, 14, 42-45]. SRL als erster Vertreter der mTOR-Inhibitoren wurde mit geringerer Nephrotoxizität, jedoch auch mit Wundheilungsstörungen, Knochenmarksdepression und Hyperlipidämie in Verbindung gebracht [46]. Die wegweisende Elite-Symphonie-Studie verglich verschiedene Minimierungsstrategien und zeigte eine Überlegenheit niedrigdosierter Tacrolimustherapie zusammen mit IL2-RA, MPA und Steroiden gegenüber einem Ciclosporin-Arm und einem CNI-freien Regime mit

niedrigdosiertem SRL [15]. Dieses Regime gehört zum gegenwärtigen Standard in der Nierentransplantation und fand seit 2009 Eingang in die aktuellen Leitlinien [15, 46-49].

Aktuelle Leitlinien

Zu den internationalen KDIGO-Leitlinien wurden Kommentare der European Renal Best Practice-Arbeitsgruppe (ERBP), und der US-amerikanischen National Kidney Foundation mit ihrer Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (KDOQI) publiziert [46-48].

In den KDIGO Leitlinien wird eine perioperative Induktionstherapie mit IL2-RA empfohlen, bei erhöhtem immunologischen Risiko mit depletierenden anti-Lymphozytenantikörpern, die in den USA breit eingesetzt werden [46]. Die ERBP-Arbeitsgruppe sieht dagegen keinen generellen Vorteil von IL2-RA bei Tacrolimus- und MPA-basierter Therapie [47].

Die Erhaltungstherapie sollte nach KDIGO aus einer Kombination von CNI, Proliferationshemmer und Steroiden bestehen [46]. Wegen höherer Effektivität wird Tacrolimus vor Ciclosporin und MPA vor Azathioprin bevorzugt [46]. Nach demUSRDS-Datenbericht von 2013 war zuletzt Tacrolimus mit 91% initialer CNI, und MPA ersetzte Azathioprin fast vollständig [9].

Akute Rejektionen sollten bioptisch nachgewiesen und mittels Steroidbolus und anschließender Steroid-Dauertherapie sowie möglichst MPA behandelt werden [46]. ERBP empfiehlt eine Umstellung auf Tacrolimus [47]. Depletierende anti-Lymphozytenantikörper sollten bei therapierefraktären und rekurrenten zellulären Rejektionen eingesetzt werden [46]. Akute antikörpervermittelte Rejektionen sollten mittels Plasmapherese, intravenösen Immunglobulinen, anti-CD20-Antikörpern oder anti-Lymphozytenantikörpern behandelt werden [46]. Subklinische und Borderline-Rejektionen sollten therapiert werden, während KDOQI hierfür jedoch keine ausreichende Evidenz sieht [46, 48].

Steroidminimisierung

Eine hochdosierte perioperative Steroidtherapie, die innerhalb der folgenden Monate reduziert und dauerhaft niedrigdosiert fortgeführt wird, gehört in vielen Zentren zum Standard und liegt beispielsweise in den USA nach einem Jahr deutlich über 60% [9]. Nachdem frühere Steroidentzugsversuche nach drei Monaten unter Ciclosporin fehlschlugen [50], wurde mit IL2-RA/Tacrolimus/MPA Besserung bezüglich Diabetes, Knochendichte und Lipidprofil erreicht bei gleicher Mortalität, Rejektionen und Anzahl an Transplantatversagen im Kurzzeitverlauf [51]. In Niedrigrisikopatienten fand eine wegweisende Studie für frühen Steroidentzug ab dem achten Tag Vorteile für Gewichtszunahme, Lipidprofil und Diabetes ohne Unterschiede für Tod, Transplantatverlust und Nierenfunktion nach fünf Jahren [52].

Eine Cochrane-Analyse von 30 randomisierten Studien mit kurzer Verlaufsbeurteilung zeigte unter Steroid-Einsparung mehr zumeist milde Rejektionen bei gleichem Transplantatüberleben aber Besserung von Hypertonie, Lipidprofil, Diabetes und kardiovaskulären Ereignissen [53]. KDIGO erachtet ein Absetzen von Steroiden nach einer Induktionstherapie in Patienten mit niedrigem immunologischen Risiko innerhalb der ersten Woche für möglich, bei ERBP bestehen keine Bedenken gegen ein Absetzen unter Tacrolimus/MPA auch zu späteren Zeitpunkten [46, 47]. KDOQI weist dagegen auf die Rejektionsgefahren eines späten (>12 Monate) Steroidentzuges hin [48].

Einsatz von mTOR-Inhibitoren

Der Zulassung von SRL als erstem mTOR-Inhibitor im Jahre 2001 folgte 2003 dessen Derivat Everolimus mit kürzerer Halbwertszeit. Nach Komplexbildung mit zytosolischen FKBP-Proteinen wird über eine Hemmung der mTOR-Kinase neben anderen Funktionen die Zellzyklus-Regulation und Proliferation in T- und B-Lymphozyten, aber auch Myozyten und Fibroblasten inhibiert [54]. Bei einer Vielzahl potentieller Anwendungen wie Vaskulopathie, Virusinfekten und Malignome sollten die im Vergleich mit CNI geringere Effektivität aber vermehrte Hyperlipidämie, Knochenmarksuppression, Wundheilungsstörungen und Proteinurie berücksichtigt werden [55-57]. In Kombination mit CNI sollten wegen vermehrter Nephrotoxizität CNI-Dosen reduziert werden [55-57].

Während KDIGO im Normalfall ein dauerhaftes Fortführen von CNI empfiehlt, befürwortet KDOQI einen Wechsel von CNI auf mTOR-Inhibitoren nach drei bis sechs Monaten [46, 48]. Bei Funktionsverschlechterung und histologischem Verdacht auf CNI-Toxizität sollte jedoch auch nach KDIGO eine Minimisierung von CNI erfolgen. Sofern die GFR >40 ml/min/1,73m² und die Proteinurie <500 mg/g Kreatinin sind, wird eine Konversion auf mTOR-Inhibitoren befürwortet [46].

Ein Einsatz von mTOR-Inhibitoren ab dem Transplantationszeitpunkt zeigte in kleinen Studien im Vergleich zu CNI bessere GFR bei vereinzelt vermehrten Rejektionen, wobei hohe SRL-Spiegel günstig erschienen [57-63]. Die große Elite-Symphony-Studie fand für ein Regime mit niedrigdosiertem SRL ohne Spiegelbestimmungen inferiore GFR und Transplantatüberleben mit den höchsten Rejektionsraten im Vergleich zu CNI [15]. Die ORION-Studie fand ebenfalls gehäufte Rejektionen für SRL/MPA verglichen mit CNI [64]. Eine Metaanalyse und neuere retrospektive Analysen fanden für mTOR-Inhibitoren mehr Transplantatverluste beziehungsweise höhere Mortalität im Vergleich zu CNI [65-67].

Studien zu späterer Umstellung auf mTOR-Inhibitoren ergaben bessere Ergebnisse. In einer großen Studie zur Konversion auf SRL nach sechs bis 120 Monaten fanden sich zwar bei initialer GFR<40 m/min mehr Rejektionen, Transplantatverluste und Tod, jedoch im Falle

einer initialen GFR >40 ml/min Verbesserungen der GFR, gleiche Rejektionsrate und verbessertes Patienten- sowie Transplantatüberleben bis zu 24 Monaten [68].

Zusätzliches Absetzen von Steroiden nach vorheriger mTOR-Konversion führte in der Concept-Studie zu besserer GFR aber erhöhten Rejektionsraten [69]. Eine Konversion auf SRL nach ein bis sechs Monaten ergab in der "Spare the Nephron"-Studie geringere Mortalität und verbessertes Transplantatüberleben nach zwei Jahren [70]. In der Zeus-Studie führte eine Konversion auf Everolimus nach 4,5 Monaten trotz vermehrter Rejektionen zu besserer Ein-Jahres GFR, nach drei Jahren waren aber in 28% der Patienten wieder CNI begonnen worden [71, 72]. Eine gepoolte Analyse zweier Patientenkohorten mit Konversion von Ciclosporin auf Everolimus nach 3 bis 4,5 Monaten und ca. 60% Steroidentzug nach 12 Monaten zeigte kürzlich höhere Raten an neu aufgetretenen Donor-spezifischen Antikörpern (DSA) und humoralen Rejektionen im Verlauf [73].

Ein wichtiges Indikationsfeld für mTOR-Inhibitoren sind Hauttumoren [74]. Eine multivariate Analyse von 33.000 Nierentransplantationspatienten fand zudem eine signifikant geringere Neubildungsrate für solide Tumoren unter CNI-freien Regimen im Verlauf bis 963 Tage [75]. Vorteile für mTOR-Inhibitoren wurden auch für virale Infektionen beschrieben [76-78]. Zusammenfassend lassen die bisher vorliegenden Daten zwar Optimismus für ausgewählte Patientengruppen und Medikamentenkombinationen, aber bei eingeschränkter Langzeitbeobachtung noch keinen Schluss auf die Langzeiteffekte der Konversion von CNI auf mTOR-Inhibitoren zu.

Neuere Immunsuppressiva

Belatacept ist ein Fusionsprotein der extrazellulären Domäne von CTLA-4 und des Fc-Fragments von humanem IgG1, dessen Zulassung 2011 als neues Therapieprinzip zur CNI-Einsparung erfolgte [79-83]. Durch Bindung an CD80 bzw. CD86 auf Antigen-präsentierenden Zellen wird die CD28-vermittelte Kostimulation auf T-Zellen inhibiert [79-83]. Fehlende Nephrotoxizität und metabolische Nebenwirkungen sind entscheidende Vorteile des humanisierten Antikörpers, wegen erhöhter PTLD-Risiken besteht jedoch eine Kontraindikation für Belatacept in EBV-seronegativen Patienten [83]. Vincenti et al. fanden in einer Phase II-Studie in den Belatacept-Gruppen eine verbesserte GFR nach 12 Monaten, histologisch weniger chronische Transplantatnephropathie [79], sowie stabile Transplantatfunktion nach fünf Jahren gegenüber einer Verschlechterung unter Ciclosporin [80]. Die BENEFIT-EXT-Studie fand bei Empfängern von Nierentransplantaten mit erweiterten Spenderkriterien für Belatacept versus Ciclosporin nach drei Jahren vergleichbare Rejektionsraten, Patienten- und Transplantatüberleben sowie bessere Nierenfunktion [81]. Die BENEFIT-Studie zeigte für Belatacept-Regime gegenüber

Ciclosporin nach einem Jahr ein vergleichbares Patienten- und Organüberleben mit besserer Nierenfunktion trotz höherer Rejektionsraten und vermehrten PTLD [82]. Die Drei-Jahres-Daten zeigten hervorragende Ergebnisse mit stabiler Nierenfunktion ohne neue akute Rejektionen und PTLD sowie gleiche Raten an Infekten, Tumoren und Bildung von DSA [83]. Neben Belatacept wurden in den letzten Jahren neue Medikamente wie der CNI Voclosporin, der anti-CD40-Antikörper ASKP1240 und der JAK-3-Inhibitor Tofacitinib geprüft, deren breiter klinischer Einsatz gegenwärtig jedoch nicht abzusehen ist [84-86].

Humorale und zelluläre HLA-Präsensibilisierung

Ein erheblicher Anteil der Patienten auf der Warteliste zur Nierentransplantation zeigt eine HLA-Sensibilisierung auf B-Zell-Ebene, d.h. Panel Reactive Antibody (PRA) 6-85%, bzw. eine Hochimmunisierung bei PRA \geq 85% (Abb. 1). Nach vorläufigen Untersuchungen mittels des IFN- γ Elispot-Tests weist ein signifikanter Anteil der Patienten auch eine zelluläre Präsensibilisierung auf, die zumindest teilweise unabhängig von humoraler Präsensibilisierung auftritt [91]. Alloreaktive T- und B-Memoryzell-Antworten werden im Allgemeinen auf Bluttransfusionen, Schwangerschaften und frühere Transplantationen zurückgeführt [19, 87, 91, 92]. Für die zelluläre Sensibilisierung wurde daneben auch die Rolle der sogenannten heterologen Immunität gegen fremde HLA-Antigene beschrieben [96, 97]. Hierbei kreuzreagieren Effektor-/Memory-T-Zellen, die gegen Nicht-HLA-Antigene wie z.B. virale Proteine im Rahmen von Infektionen generiert wurden, gegen Alloantigene [96, 97]. Die heterologe Immunität wird als einer der Gründe angesehen, warum toleranzinduzierende Protokolle in der Praxis bislang schwer zu realisieren waren [96, 97]. Da Effektor-/Memory-T-Zellen langlebig sind und durch die üblichen immunsuppressiven Regime nur partiell kontrolliert werden können, erhalten präsensibilisierte Patienten häufig Protokolle mit perioperativer Induktion durch depletierende anti-Lymphozytenantikörper wie polyklonales Thymoglobulin oder den humanisierten monoklonalen anti-CD52 Antikörper Campath 1H [91, 92, 98-100].

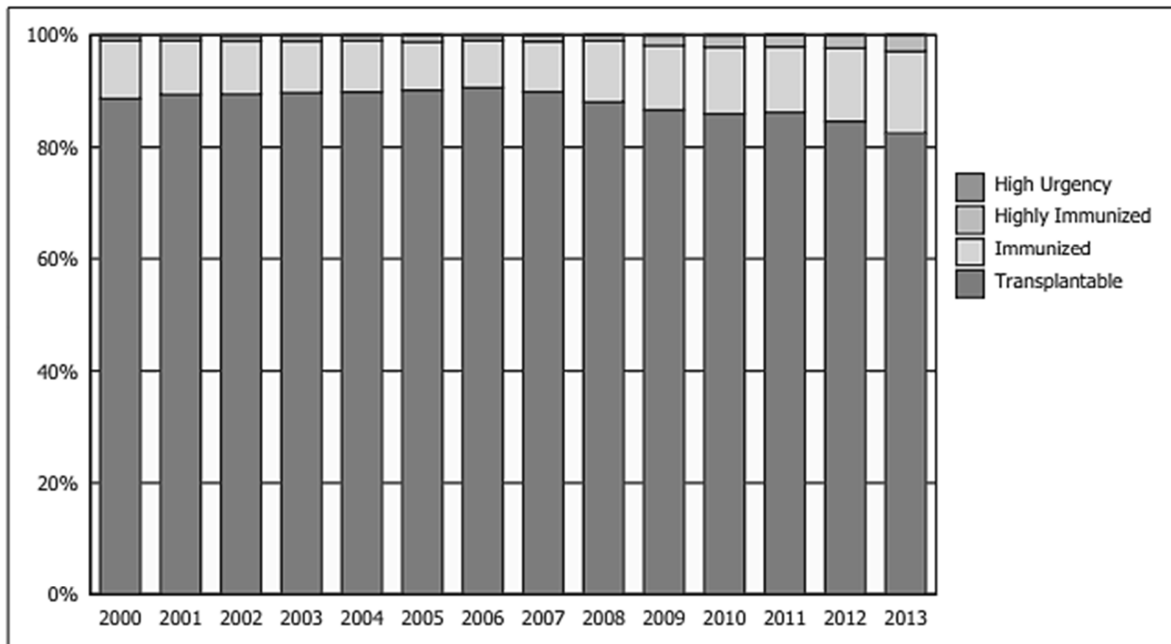


Abbildung 1. Anteil immunisierter Patienten auf der Nierentransplantations-Warteliste bei Eurotransplant. Highly Immunized: PRA \geq 85%; Immunized: PRA 6 bis <85%; Transplantable: PRA <6%. Quelle: Eurotransplant International Foundation Annual Report 2013 (www.eurotransplant.org)

Auf dem Gebiet der HLA-Antikörper-Diagnostik wurden in den letzten Jahren entscheidende Fortschritte erzielt [101]. Die klassischen Tests zur Detektion lymphozytotoxischer HLA-Antikörper gegen einzelne Spender (Crossmatch) oder gegen ein Panel von Blutspendern (PRA) wurden durch hochsensitive Festphase-Techniken wie die Luminex-Technologie ergänzt, die Sensibilisierungen bis auf die Ebene einzelner HLA-Antigene identifiziert [101]. Im Quartalscreening können bei Wartelistenpatienten HLA-Sensibilisierungen detektiert und bei der Allokation als inakzeptable Antigene berücksichtigt werden [102]. HLA-sensibilisierte Hochrisikopatienten können bei Eurotransplant im „Acceptable Mismatch Program“ durch Auswahl von kompatiblen Transplantaten mit zusätzlich reduziertem HLA-Mismatch Organangebote mit akzeptablem Abstoßungsrisiko erhalten [102]. Aktuelle Leitlinien geben Empfehlungen zum HLA-Antikörper-Screening vor und nach Transplantation [95].

Neben der HLA-abhängigen Immunreaktion wurde auch die Relevanz von Non-HLA-Antikörpern in Patienten mit schwerer vaskulärer Rejektion und maligner Hypertonie ohne nachweisbare HLA-Antikörper gezeigt [94]. Dabei richten sich Non-HLA-Antikörper-Bildungen vor allem gegen Antigene auf Epithel- und Endothelzellen [95].

1.2. Abstoßungsreaktionen als häufigste Ursache des chronischen Transplantatversagens ohne Tod des Patienten

Größere Protokoll- und Indikationsbiopsiestudien identifizierten in letzter Zeit Antikörpervermittelte Abstoßungen als Hauptursache des späten Transplantatversagens ohne Tod des Patienten [16, 17, 103-112]. Dies wurde auch ermöglicht durch zunehmende Aufklärung der Mechanismen akuter und chronischer Abstoßungsprozesse [87-136]. Die verbesserte HLA-Antikörper-Diagnostik steigerte die Sensitivität auf der humoralen Ebene, zudem wurden viele weitere Biomarkerkandidaten entdeckt, die zur nichtinvasiven Vorhersage von Rejektionen dienen könnten [16-19, 87, 101-136].

Zunächst zeigten Verlaufsbiopsien bis zum fünften Jahr mit 17% Fibrose geringere histologische Schäden als erwartet [14, 40]. Transplantatverluste in dieser Phase waren durch rezidivierende Grunderkrankung und Transplantatglomerulopathie (37%), Rejektion (12%) sowie medizinische bzw. chirurgische Ereignisse (16%) bedingt [11]. Die DeKAF-Studie fand in Indikationsbiopsien nach im Mittel sieben Jahren in 57% antikörpervermittelte Schäden verbunden mit schlechter Prognose, während CNI-Toxizitätszeichen prognostisch sogar günstig waren [103]. Sellares et al. fanden als Ursachen chronischen Transplantatversagens in Indikationsbiopsien Antikörpervermittelte oder gemischte Rejektionen (64%) in Assoziation mit Non-Adhärenz, sowie rezidivierende Grunderkrankung (18%), Polyomavirus-Nephropathie (7%) und größere medizinisch-chirurgische Ereignisse (11%) [17]. Wiebe et al. zeigten durch serielle HLA-Antikörperbestimmungen, dass ca. 15% der Patienten mit niedrigem immunologischen Risiko im Mittel 4,6 Jahre nach Transplantation DSA entwickelten, was das Transplantatüberleben nach zehn Jahren um 40% reduzierte. Die Entwicklung von DSA ging in den Studien der klinischen Transplantatdysfunktion häufig um Monate bis Jahre voraus [109-111].

Eine große Studie zum Nachweis von komplementbindenden und damit zytotoxischen C1q-bindenden HLA-Antikörpern nach Transplantation zeigte ein Fünf-Jahres-Transplantatüberleben von nur 54% gegenüber 94% bzw. 93% bei fehlenden bzw. nicht-Komplement-bindenden Antikörpern, verbunden mit biopsisch vermehrte Antikörpervermittelte Rejektionen, Mikrovaskulitis und C4d-Ablagerungen [104]. Eine weitere maßgebliche Neuerung der jüngsten Zeit ist die kürzlich in die Banff-Klassifikation neu aufgenommene C4d-negative Antikörpervermittelte Rejektion, die zunehmend in den Fokus gerät. Hierbei ist zusätzlich zum DSA-Nachweis bereits eine signifikante Mikrovaskulitis (Glomerulitis, peritubuläre Kapillaritis oder thrombotische Mikroangiopathie) oder ein Nachweis validierter spezifischer Gentranskripte für Endothelschaden diagnostisch hinreichend [108].

Studien der jüngsten Zeit beschäftigen sich mit Risikofaktoren für humorale Rejektionen, und identifizierten dabei unter anderem in Microarray-Analysen von Transplantatbiopsien durch Definition von Transkripten für Antikörper- und T-Zell-vermittelte Rejektionen letztere als Vorboten spät auftretender Antikörper-vermittelter Rejektionen [105-107].

Als Prädiktoren für die Entwicklung von DSA wurden Faktoren wie HLA-Mismatch (vor allem Klasse II), jüngeres Alter, Non-Adhärenz, gering immunsuppressive Protokolle sowie vorangegangene T-Zell-vermittelte subklinische oder akute Rejektionen identifiziert [9, 17, 30, 73, 109-115]. Mikrovaskuläre Schäden wie peritubuläre Kapillaritis und Glomerulitis als klassische Merkmale humoraler Rejektion wurden auch in der zellulären Rejektion gefunden, insbesondere bei Fehlen von C4d und DSA [109, 115-116].

1.3. BKV-Infektionen nach Nierentransplantation

Nach Einführung der modernen intensiven Immunsuppression mit Tacrolimus/MPA wurde die Polyomavirus-assoziierte Nephropathie (PVAN) als zunehmende infektiöse Komplikation nach Nierentransplantation entdeckt, die in 10 bis >50% der Fälle zum Transplantatversagen führt [137-141]. Die Mehrheit der PVAN wird durch den BK-Virus hervorgerufen, der nach Primärinfektion in der Kindheit in Tubulusepithelien persistiert und eine Seroprävalanz von mehr als 80% aufweist [142].

Ein Großteil der PVAN wird im ersten Jahr nach Transplantation diagnostiziert, die Infektion kann jedoch auch deutlich später auftreten [143-146]. Eine aktuelle Analyse von mehr als 48.000 Patienten zeigte eine steigende Inzidenz der PVAN von 2,18% nach einem Jahr auf 3,5% nach zwei und 6,6% nach fünf Jahren [144]. Erhöhtes PVAN-Risiko wurde für Thymoglobulin- und Tacrolimus- sowie MMF-basierte Immunsuppression gefunden, zudem für afroamerikanische Ethnizität, HLA-Mismatch und akute Rejektion innerhalb der ersten sechs Monate, während weibliches Geschlecht, aber auch Lebendspende mit niedrigerem Risiko assoziiert waren [143-146]. Die konkreten Mechanismen der Virusreaktivierung sind noch unzureichend identifiziert, zu den wesentlichen Auslösern werden jedoch Immunsuppression, geringe Virus-spezifische Immunität, Inflammation und Gewebeschäden gezählt [147]. Nach Reaktivierung des Virus kommt es zu einer Tubulusschädigung mit Zelluntergang und Virusfreisetzung, was eine Virurie und bei Progredienz eine Virämie bedingt [147].

Der Goldstandard in der Diagnostik ist der histologische Nachweis von typischen virusassoziierten Zytopathien [147]. Da jedoch eine frühe Diagnosestellung der BK-Virusreplikation für die Prognose entscheidend ist, und trotz antiviraler Therapieversuche mit Cidofovir, Leflunomid oder Ciprofloxacin keine Standardtherapie zur Verfügung steht, beruhen Therapieempfehlungen auf engmaschiger Kontrolle der BK-Viruslasten im Plasma

und Reduktion der Netto-Immunsuppression im Falle einer frühzeitig detektierten signifikanten Virusreplikation [146, 148, 149]. Aktives Screening auf Polyomavirus-Replikation und rechtzeitige Interventionen können zu deutlich geringerer Inzidenz von PVAN führen [46, 140]. Die KDIGO-Leitlinien schlagen ein regelmäßiges Screening nach Transplantation mittels quantitativer DNA-PCR mindestens monatlich in den ersten 3 bis 6 Monaten, danach alle 3 Monate bis zum Ende des ersten Jahres vor, zudem bei jeder unerklärten Transplantatfunktionsverschlechterung und nach Rejektionstherapie. Sollte die BK-Viruslast anhaltend über 10.000 Kopien pro ml Plasma liegen, wird eine Reduktion der Immunsuppression empfohlen [46].

1.4. Pneumocystis jirovecii-Pneumonie

Wie die PVAN zeigte in den letzten Jahrzehnten auch die PjP steigende Inzidenzen in Nierentransplantationspatienten, die sich häufig in Form lokaler Ausbrüche durch Ansteckung manifestierten [150-152]. Seit 2004 kam es auch in verschiedenen deutschen Transplantationszentren [153] zu dramatischen Anstiegen der PjP-Inzidenzen in Form lokaler Ausbrüche (Abb. 2).

Als mögliche Infektionsquellen für Ansteckungen zwischen Patienten finden sich einzelne Indexpatienten mit PJP, aber auch hohe Pneumocystis-Kolonisierungsraten der oberen Atemwege beispielsweise bei COPD- und Steroid-behandelten Patienten, HIV-Infizierten und Patienten mit Bronchialkarzinomen sind möglicherweise von Bedeutung [154].

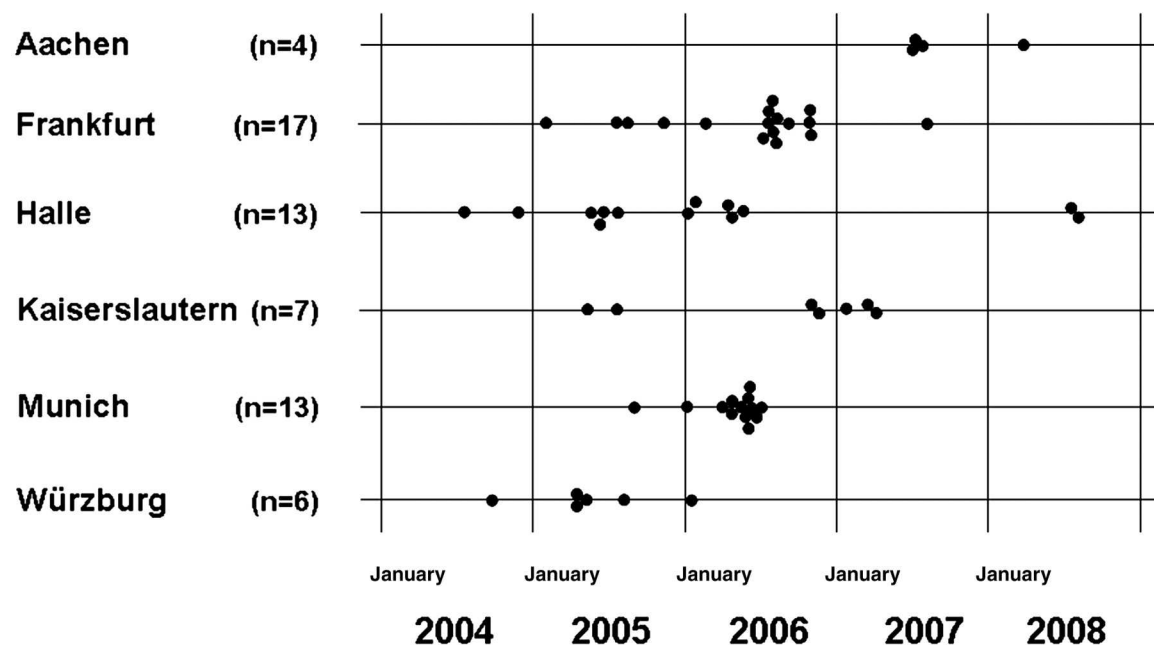


Abbildung 2. Lokale PjP Ausbrüche in deutschen Transplantationszentren. Quelle: Eitner F et al. Nephrol. Dial. Transplant. 2011;26:2013-2017

Choukri et al. fanden Hinweise auf aerogene Übertragung, da bei PjP Patienten in einem Meter Abstand 80% der Luftproben DNA positiv waren, und noch 33% im Abstand von acht Metern. PjP-Patienten sollten daher strikt von anderen immunkompromittierten Patienten separiert werden [155].

Als Prädisposition für eine Ansteckung wurde einerseits die hohe Netto-Immunsuppression der Patienten vermutet, weshalb eine Chemoprophylaxe in erster Linie mit TMP/SMX für 3-12 Monate nach Nierentransplantation empfohlen wird [46, 152]. Eine Fall-Kohorten-Studie der deutschen PjP-Ausbrüche 2004-2008 identifizierte schlechte Nierenfunktion, Abstoßungen, MPA-Immunsuppression und geringeren Anteil an IL2-RA-Therapien als Risikofaktoren für das Auftreten der PjP [153]. Darüber hinaus wird bereits lange eine Rolle für Steroide diskutiert [152, 156, 157]. Nicht selten kann die PjP auch spät nach Nierentransplantation auftreten, und lokale Ausbrüche unter Langzeittransplantierten wurden beschrieben [151]. Es erscheint somit essentiell, immunologische Risikofaktoren für die PjP in Nierentransplantationspatienten besser zu charakterisieren.

Für die PjP ist TMP/SMX allgemein akzeptierte Erstlinien-Therapie [158]. Typische unerwünschte Wirkungen umfassen Hepatotoxizität, Knochenmarksuppression und Niereninsuffizienz [159]. Als Therapiealternativen wurden intravenöses Pentamidin, Atovaquon und Clindamycin-Primaquin (C-P) vorgeschlagen, obwohl vergleichende Studien in Nierentransplantierten und anderen Nicht-HIV-Patientenkohorten fehlen [158].

1.5. Mannose-bindendes Lektin

Das Mannose-bindende Lektin (MBL) wird in der Leber synthetisiert und ist sowohl als löslicher Pattern Recognition Receptor (PRR) als auch als Aktivator des Lektin-abhängigen Weges der Komplementkaskade ein essentieller Bestandteil des angeborenen Immunsystems [162]. MBL bindet im Serum an Mannose-haltige Bestandteile z.B. von Bakterienzellwänden, wodurch MBL-abhängige Serinproteasen und die Komplementkaskade aktiviert werden, daneben jedoch auch an viele weitere mikrobielle Zucker- und Phospholipidstrukturen, Nukleinsäuren und Immunglobulin [162]. Polymorphismen im MBL2 Gen bedingen unterschiedlich hohe MBL-Spiegel, für die in vielen Studien Krankheitsassoziationen gefunden wurden [160, 161]. In Abhängigkeit von der Definition eines Schwellenwertes (meist <500 ng/ml) weisen ca. 10–50% der Normalbevölkerung eine MBL-Defizienz auf [162]. Assoziationen mit Atemwegsinfekten, aber auch Pilzinfektionen wie Candidiasis und invasiver Aspergillose wurden beschrieben [162-166]. Andererseits zeigen Diabetiker und Patienten mit Autoimmunerkrankungen schlechtere renale und kardiovaskuläre Prognosen bei hohen MBL-Spiegeln [162].

In der Transplantationsmedizin erlangte MBL kürzlich Beachtung, nachdem gezeigt wurde, dass hohe MBL-Spiegel mit vermehrtem Ischämie-Reperfusionsschaden und Abstoßung assoziiert waren [166]. Zudem wurden vermindertes Transplantatüberleben bei Nierentransplantierten und verschlechtertes Patientenüberleben nach kombinierter Pankreas-/Nierentransplantation beschrieben [166].

1.6. Fragestellungen der vorliegenden Arbeiten

Die vorliegenden Arbeiten beschäftigten sich mit einer Risikostratifizierung für Abstoßungs- und infektiöse Komplikationen von Nierentransplantationspatienten. Die drei Studien im ersten Teil der Arbeit etablierten und untersuchten Tests zur Erkennung zellulärer HLA-Sensibilisierung und deren prädiktiven Wert für frühe Abstoßungsepisoden und Transplantatfunktionsverschlechterung. Im zweiten Teil der Arbeit werden Studien zur Polyomavirus-Nephropathie (PVAN) und Pneumocystis jirovecii Pneumonie (PjP) nach Nierentransplantation vorgestellt. Wir untersuchten hier zum einen Risikofaktoren für PVAN und PJP, zum anderen wurde in einer retrospektiven Analyse aller PJP-Patienten der Charité eines 10-Jahres-Zeitraums die antimikrobielle Therapie der PJP untersucht und dabei das Regime Clindamycin/Primaquin (C-P) mit der etablierten Standardtherapie Trimethoprim/Sulfamethoxazol (TMP/SMX) verglichen.

2. Eigene Arbeiten

2.1. Frequenzen Donor-reaktiver T-Zellen im peripheren Blut sind Prädiktoren von Abstoßungsereignissen und Nierentransplantatfunktion nach 6 und 12 Monaten

Nickel P, Presber F, Bold G, Biti D, Schönemann C, Tullius SG, Volk HD, Reinke P. *Enzyme-linked immunosorbent spot assay for donor-reactive interferon-gamma-producing cells identifies T-cell presensitization and correlates with graft function at 6 and 12 months in renal-transplant recipients. Transplantation. 2004 Dec 15;78(11):1640-6.*

<http://dx.doi.org/10.1097/01.tp.0000144057.31799.6a>

2.2. Identifizierung von Patienten auf der Warteliste zur Nierentransplantation mit Panel-reaktiven Effektor-/Memory-T-Zellen

Andree H, Nickel P, Nasiadko C, Hammer MH, Schönemann C, Pruss A, Volk HD, Reinke P. J Am Soc Nephrol. 2006 Feb;17(2):573-80. Identification of dialysis patients with panel-reactive memory T cells before kidney transplantation using an allogeneic cell bank.

<http://dx.doi.org/10.1681/asn.2005030299>

2.3. Frequenzen Donor-reaktiver T-Zellen im peripheren Blut korrelieren mit der Transplantatfunktion in der Spätphase nach Nierentransplantation

Bestard O, Nickel P, Cruzado JM, Schoenemann C, Boenisch O, Sefrin A, Grinyó JM, Volk HD, Reinke P. *J Am Soc Nephrol.* 2008 Jul;19(7):1419-29. *Circulating alloreactive T cells correlate with graft function in longstanding renal transplant recipients.*

<http://dx.doi.org/10.1681/asn.2007050539>

2.4. Defizienz des Mannose-bindenden Lektins ist nicht mit erhöhtem Risiko für Polyomavirus-Nephropathie assoziiert

*Liman P, Babel N, Schachtner T, Unterwalder N, König J, Hofmann J, Reinke P, **Nickel P**. Transpl Immunol. 2012 Mar;26(2-3):123-7. Mannose-binding lectin deficiency is not associated with increased risk for polyomavirus nephropathy.*

<http://dx.doi.org/10.1016/j.trim.2011.12.004>

2.5. Eingeschränkte Thymusfunktion und CD4+ T Lymphopenie, aber nicht Defizienz des Mannose-bindenden Lektins, sind Risikofaktoren für Pneumocystis jirovecii-Pneumonien nach Nierentransplantation

*Schürmann M, Schürmann D, Schindler R, Meisel C, Liman P, Kruse J, Enghard P, König J, Schmidt D, Reinke P, **Nickel P**. Transpl Immunol. 2013 Jun;28(4):159-63. Impaired thymic function and CD4+ T lymphopenia, but not mannose-binding lectin deficiency, are risk factors for Pneumocystis jirovecii pneumonia in kidney transplant recipients.*

<http://dx.doi.org/10.1016/j.trim.2013.05.003>

2.6. Clindamycin und Primaquin in der Therapie der Pneumocystis Jirovecii-Pneumonie bei Nierentransplantierten

Nickel P, Schürmann M, Albrecht H, Schindler R, Budde K, Westhoff T, Millward J, Suttorp N, Reinke P, Schürmann D. *Infection.* 2014 Aug 29. *Clindamycin-primaquine for pneumocystis jiroveci pneumonia in renal transplant patients*

<http://dx.doi.org/10.1007/s15010-014-0660-y>

3. Diskussion

Eine dauerhafte immunsuppressive Therapie zur Erhaltung der Nierentransplantatfunktion ist nach der gegenwärtigen Datenlage unverzichtbar. Diese wird zum Transplantationszeitpunkt unter Berücksichtigung humoraler HLA-Sensibilisierung und anamnestischer Risikofaktoren verordnet und im Verlauf häufig erst nach Auftreten von Transplantatfunktionsverschlechterung oder anderen Ereignissen modifiziert. Eine möglichst frühzeitige Vorhersage des immunologischen Risikos wäre für eine Individualisierung der Immunsuppression wünschenswert, um die Langzeitüberlebensraten der Transplantate zu verbessern [87, 91]. Bisher wurde in Studien und Leitlinien erhöhtes immunologisches Risiko definiert für einen Nachweis von Faktoren wie Panel Reactive Antibody (PRA)>0-80%, Vorhandensein von DSA, hohes HLA-Mismatch, jüngeres Empfängeralter, höheres Spenderalter, Ethnizität, Blutgruppeninkompatibilität, verzögerte Funktionsaufnahme des Transplantates und kalte Ischämiezeit>24h [46-49]. Die ERBP-Arbeitsgruppe definiert erhöhtes immunologisches Risiko auch für mehrere frühere Transplantationen oder nach Transplantatverlust durch Rejektion [47]. Methoden zur Messung der zellulären Alloimmunität könnten die immunologische Risikovorhersage hier verbessern und wiederholt vor und nach Transplantation Anwendung finden [87, 91, 117].

Auch in Hinblick auf Infektionserkrankungen nach Transplantation wäre eine nähere Charakterisierung von Risikofaktoren für typische virale, bakterielle und fungale Infektionen unter der Immunsuppression wünschenswert, um eine bessere Steuerbarkeit der immunsuppressiven Therapie und gezielteren Einsatz antiinfektiöser medikamentöser Prophylaxen zu erreichen.

Unsere Arbeiten sind Teil der internationalen Bestrebungen, das individuelle Abstoßungs- und Infektionsrisiko vor und nach der Transplantation durch immunologische Biomarker besser vorhersagen zu können [19, 87, 91, 117].

Mechanismen von Abstoßungsprozessen

In den letzten Jahren konnten die Mechanismen akuter und chronischer Abstoßungen in Abhängigkeit vom Zeitpunkt nach Transplantation charakterisiert und auf diesem Boden eine wachsende Anzahl von potentiellen Markern zur nichtinvasiven Diagnostik von Alloimmunschäden entwickelt werden [16, 17, 87-93, 103-115].

Die Abstoßungsmechanismen verdienen zunächst eine besondere Betrachtung im zeitlichen Verlauf nach Transplantation. Unmittelbar nach Freigabe der Perfusion eines Transplantates werden durch den Ischämie-Reperfusionsschaden oxidative Schäden in zuvor ischämischem

Gewebe hervorgerufen, woraus eine Aktivierung des angeborenen, in zweiter Linie auch des adaptiven Immunsystems resultiert [88-92]. Freigesetzte Zytosolbestandteile werden von membranständigen oder sezernierten PRR wie Toll-Like Rezeptoren oder MBL erkannt, wodurch Antigen-präsentierende Zellen (APZ) und das Komplementsystem aktiviert, proinflammatorische Zytokine, Adhäsionsmoleküle und Chemokine freigesetzt und Entzündungszellen rekrutiert werden [88, 89].

Neben den Lektin-abhängigen oder alternativen Wegen mit Bildung von C3a bzw. C3b wird Komplement auch über den klassischen Weg durch Alloantikörperbindung an C1q unter Bildung von C4d aktiviert, das in der Antikörper-vermittelten Rejektion histologisch nachgewiesen werden kann [92]. Die Komplement-Spaltprodukte führen zur Gefäßerweiterung, Rekrutierung weiterer Entzündungszellen und Opsonisierung von Zielzellen mit Verstärkung von Effektormechanismen wie Phagozytose und Antigenpräsentation [92].

Naive T-Zellen erkennen in der Frühphase nach Transplantation über den T-Zell-Rezeptor auf dem direkten Weg der Alloantigenerkennung allogene Peptide auf HLA-Molekülen von Spender-APZ, was im Falle zusätzlicher kostimulatorischer Signale wie über CD28 oder das affinere CTLA4, die durch CD86 oder CD80 auf aktivierten APZ gebunden werden, zur T-Zell-Aktivierung führt [91]. In späteren Phasen nach Transplantation wurde T-Zell-Aktivierung bisher mit dem indirekten Weg der Alloantigenerkennung assoziiert, wobei Empfänger-APZ den T-Zellen Allopeptid nach Prozessierung im autologen HLA-Kontext präsentieren [91].

Intrazellulär werden im Zuge der T-Zell-Aktivierung unter anderem verschiedene Signalmoleküle phosphoryliert und die Phosphatase Calcineurin aktiviert, die den Transkriptionsfaktor NFAT dephosphoryliert und weitere Transkriptionsfaktoren wie NF κ B aktiviert, wodurch die Zytokinproduktion hochreguliert wird [92]. Innerhalb weniger Tage wird auto- sowie parakrin vermittelt eine klonale Expansion und Differenzierung in Effektor-T-Zellen erreicht [92]. Im Falle einer Alloantigenstimulation sind im Zeitraum bis 24h lediglich Effektor-Memory-T-Zellen, nicht jedoch naive T-Zellen in der Lage, Zytokine zu produzieren [91].

In Abhängigkeit vom lokalen Milieu erfolgt nach Aktivierung eine Differenzierung naiver T-Zellen in unterschiedliche CD4+ bzw. CD8+ T-Zell-Subtypen wie Th1- (IFN- γ , TNF- α) oder Th2- (IL-4, IL-5, IL-13), Th17- (IL-17) bzw. Tc1- (mit direkt zytotoxischen Effektorfunktionen) und Tc2-Subtypen [90-92]. Ein klassischer Mechanismus akuter Rejektionen umfaßt die Aktivierung von alloreaktiven CD4+ Th1-Zellen, die eine zelluläre Typ 4-Immunreaktion vom verzögerten Typ („delayed type of hypersensitivity“; DTH) nach Coombs und Gell auslösen [90-92]. Durch Produktion proinflammatorischer Zytokine (TNF- α , IFN- γ) werden hierbei Monozyten, Granulozyten aber auch B-Zellen und nachfolgend unspezifische

transplantatschädigende Mediatoren rekrutiert [90]. Neben den Th1- wurden aber auch für Th2- oder Th17-Zellen eigene Rejektionswege beschrieben [90-92].

Teile der im Verlauf einer T-Zell-Alloimmunantwort aus naiven T-Zellen generierten Effektor-T-Zellen differenzieren sich in Memory-T-Zellen mit geringerer Aktivierungsschwelle und geringem Bedarf für Kostimulation [91, 92].

Eine Aktivierung von B-Zellen erfolgt zumeist über T-Zell-Hilfe und führt zur HLA-Antikörperproduktion mit dem Risiko der Entwicklung Antikörper-vermittelter Rejektionen. B-Zellen nehmen auch direkt und als APZ an Abstoßungsmechanismen teil [92].

Lefaucheur et al. identifizierten kürzlich in frühen Indikationsbiopsien bis zum dritten Monat einer großen Patientenkohorte neben T-Zell-vermittelter vaskulärer (9%) und zellulärer (46%) Rejektion einen geringeren Anteil an Antikörper-vermittelten Rejektionen mit (21%) bzw. ohne Vaskulitis (24%), welche jedoch die Prognose verschlechterten [93].

Mehrere aktuelle Studien zeigten, dass T-Zell-vermittelte Rejektionen vor allem früh nach Transplantation auftreten, während humorale oder gemischte Rejektionen eher spät nach Transplantation beobachtet wurden [105-107]. Zelluläre Rejektionen waren dabei Risikofaktoren für die Entwicklung von DSA [30, 114, 115]. Wiebe et al. fanden bei Patienten mit neu aufgetretenen DSA eine verdoppelte Inzidenz zuvor aufgetretener klinischer oder subklinischer zellulärer Abstoßungen innerhalb der ersten sechs Monate [109, 115].

Es wurde kürzlich anlässlich des Nachweises von Mikrovaskulitis in der zellulären Rejektion postuliert, dass zelluläre Rejektionen mit peritubulärer Kapillaritis zu erhöhter HLA-Expression in der Mikrozirkulation mit Stimulation einer B-Zell-Alloantwort führen könnten [115]. Diese Daten deuten neben multiplen experimentellen Daten darauf hin, dass eine frühzeitige Biomarker-basierte Risikovorhersage für T-Zell-vermittelte Rejektionen gute Ansätze für eine Individualisierung der Immunsuppression bieten könnte.

Biomarker von zellulären Abstoßungen

Unter den neuen Biomarkern zur Charakterisierung und Abgrenzung von T-Zell-vermittelten Alloimmunantworten besitzt zunächst die Microarray-Technologie Potential, zumal Alloimmunantworten im Transplantat zukünftig auch im Zusammenhang mit dort ausgelösten Schäden und Reparaturmechanismen untersucht werden könnten [105-107]. Microarray-Techniken wurden bereits erfolgreich zur simultanen Transkriptionsanalyse multipler Gene und micro-RNA im Blut, Urin und in Biopsien getestet [87, 105-107, 117]. Kürzlich konnte bereits eine simultane Analyse von fünf Genen im peripheren Blut akute Rejektionen im Transplantat mit 91%er Sensitivität und 90%er Spezifität diagnostizieren [118]. In

ausgewählten Kohorten von klinisch toleranten Patienten ohne Erhaltungssimmunsuppression wurden zudem kürzlich Microarray-Marker für partielle Toleranz entwickelt [117].

Viele Studien beschäftigten sich mit inflammatorischen Markern in Nierentransplantatbiopsien, aber auch im Urin als nichtinvasive Rejektionsmarker [87]. Suthanthiran et al. fanden für 3 ausgewählte mRNA im Urin eine Sensitivität von 79% und Spezifität von 78% für eine Detektion von akuten Rejektionen sowie einen prognostische Aussagekraft des Testes über eine Periode von 20 Tagen vor Rejektion, gestört nur von BK-Virusinfektionen, nicht jedoch CMV- oder Harnwegsinfekten [119]. Auch Chemokine wie CXCL9 wurden im Urin untersucht und korrelierten mit subklinischer Tubulitis bzw. intrarenaler Inflammation [120].

Unter den zellulären Funktionstesten quantifiziert der sogenannte ImmuKnow-Test die stimulationsbedingte Freisetzung von Adenosintriphosphat (ADP) durch CD4+ T-Zellen als T-Zell-Funktionstest zur potentiellen Vorhersage von Über- und Unterimmunsuppression [91, 117]. Die T-Zell-Stimulation erfolgt hier jedoch unspezifisch bzw. HLA-unabhängig mit Phythämagglutinin, und der prädiktive Wert für die Vorhersage von Rejektionen bleibt umstritten [91, 117]. Der Marker lösliches CD30 (sCD30) im Serum wurde durch viele Studien untersucht, hierbei konnten niedrige Spiegel des sCD30 immunologische Niedrigrisikopatienten vor Transplantation identifizieren [117].

Früher häufig eingesetzte Antigen-spezifische Methoden zur Quantifizierung alloreaktiver T-Zell-Antworten im peripheren Blut sind die gemischte Lymphozytenreaktion (mixed lymphocyte reaction, MLR) als klassischer aber nicht ausreichend prädiktiver Histokompatibilitätstest durch Proliferationsmessung von Lymphozyten nach mehreren Tagen Stimulation, und daneben die Limiting Dilution-Technik, welche sich aufgrund des hohen Aufwandes als nicht routinefähig erwies [121]. Erst die Entwicklung neuerer Methoden wie der Durchflußzytometrie oder des Enzyme-linked immunosorbent spot (Elispot)-Tests erlaubte es, die niedrigen Frequenzen von antigenspezifischen Effektor-/Memory-T-Zellen mit vergleichsweise geringem Aufwand im Blut zu quantifizieren [121-136].

IFN- γ Elispot-Test

Unter den verfügbaren Testen zur Quantifizierung alloreaktiver T-Zell-Immunantworten bietet der IFN- γ Elispot-Test vielfältige Einsatzmöglichkeiten. In Analogie zur HLA-Antikörper-Diagnostik zeigt dieser Globaltest die Präsenz von Donor-reaktiven Effektor-/Memory-T-Zellen im peripheren Blut als Hinweis auf eine abgelaufene (zelluläre) Alloimmunreaktion

gegen das Transplantat an [91, 121]. Obwohl T-Zell-Subtypen wie z.B. regulatorische T-Zellen dabei nicht differenziert werden können, konnte ein prädiktiver Wert des IFN- γ Elispot-Tests für Abstoßungsepisoden und Transplantatfunktionsentwicklung durch uns und verschiedene Arbeitsgruppen nachgewiesen werden [123-130, 134].

Nachdem Heeger et al. zuerst eine Assoziation von Frequenzen IFN- γ -produzierender Effektor-/Memory-T-Zellen vor Transplantation mit frühen akuten Rejektionen unabhängig von HLA-Mismatch, PRA, Transfusionen oder Schwangerschaften gefunden hatten [122], konnten wir und andere Gruppen dies weitgehend bestätigen und zusätzlich eine Assoziation der nach Transplantation gemessenen IFN- γ -produzierenden T-Zellen mit der 6- und 12 Monats-Transplantatfunktion finden [123-130]. Eine weitere Studie fand eine Korrelation vor Transplantation gemessener IFN- γ -produzierender T-Zellen mit der Dialysedauer [124, 127].

In den ersten beiden hier vorgestellten Arbeiten war das Risiko einer frühen Transplantatschädigung durch die zelluläre Alloimmunität Untersuchungsgegenstand, weshalb wir auf dem direkten Weg der Alloantigenpräsentation aktivierte Donor-reaktive Effektor-/Memory-T-Zell-Frequenzen quantifizierten, die als Effektoren der frühen Post-Transplantationsphase allgemein etabliert sind [124, 132]. Als Allostimulatoren dienten hierfür in der ersten Studie noch bestrahlte Donor-Milzzellen oder -Lymphozyten. Die Bestrahlung der Stimulatoren wurde ursprünglich aus der gemischten Lymphozytenreaktion übernommen, womit deren Proliferation während der Stimulation unterdrückt wird, während die enthaltenen T-Zellen auch nach Bestrahlung unverändert Zytokine produzieren konnten [121]. In nachfolgenden Arbeiten optimierten wir und andere Gruppen daher die Spezifität des Tests, indem die Stimulatorzellen von T-Zellen depletiert wurden, bevor sie im IFN- γ Elispot-Test eingesetzt wurden [125-136].

Unsere erste Studie zeigte in der untersuchten Kohorte einen hohen Anteil von 5/42 (11,9%) der vor Transplantation untersuchten Patienten, die trotz negativen humoralen Crossmatches stark erhöhte Effektor-/Memory-T-Zell-Frequenzen aufwiesen und frühe akute Rejektionen entwickelten, die zum Teil (3/5) schwer verliefen [124]. Zusätzlich fanden wir eine Korrelation vor allem früh nach Transplantation (Woche 2 und 3) gemessener T-Zell-Frequenzen zur 6- und 12-Monats-Transplantatfunktion. Dieses Ergebnis wurde zusätzlich untermauert durch eine Korrelation zum Gesamt-HLA und HLA-DR-Mismatch [124].

Augustine et al. zeigten nachfolgend in einer retrospektiven Untersuchung an 130 Nierentransplantierten, dass alle Patienten mit Nachweis von Donor-reaktiven T-Zellen vor Transplantation, die eine Induktionstherapie erhielten, keine Rejektion erlitten und eine bessere 12-Monats-GFR aufwiesen im Vergleich zu Patienten mit Donor-reaktiven T-Zellen ohne Induktionstherapie, von denen 46% eine akute Rejektion und inferiore GFR nach 12 Monaten entwickelten [129]. Zudem konvertierten 86% der Patienten mit Donor-reaktiven T-

Zellen nach der Induktionstherapie zu einem negativen Elispot-Test nach Transplantation, während dies nur bei 35% der Patienten ohne Induktion beobachtet wurde [129].

In einer Folgestudie von Bestard et al. wurden erstmals 60 Nierentransplantierte auf der Basis eines IFN- γ Elispot-Tests vor Transplantation in 38 hoch- versus 22 niedrig-reaktive Patienten stratifiziert zur Gabe einer CNI-freien Immunsuppression unter Einsatz von SRL [131]. Nach 6 Monaten wurde eine erneute Messung des IFN- γ Elispots und zusätzlich eine Protokollbiopsie durchgeführt, woraufhin im SRL-Arm bei anhaltend negativem Test eine weitere Reduktion der Immunsuppression erfolgte, während bei Entwicklung eines positiven Tests oder Rejektion eine Umstellung auf Tacrolimus/MPA/Steroid erfolgte [131]. Im Tacrolimus-Arm wurde bei negativem Folgetest das Steroid ausgeschlichen [131]. Unabhängig von der Immunsuppression zeigten Patienten mit einem positiven 6-Monats-IFN- γ Elispot schlechtere Transplantatfunktion und vermehrt subklinische zelluläre Rejektionen nach 6 und 12 Monaten [131].

Da die Auswertung des Elispot-Tests länger als 24h benötigt, etablierten wir in der zweiten hier vorgestellten Studie unabhängig aber simultan zur Gruppe Heegers in Analogie zum PRA-Test einen IFN- γ Elispot-Test zur Messung Panel-reaktiver Effektor-/Memory-T-Zellen (PRT) gegen ein Panel von Blutspendern mit den häufigsten HLA-Antigenen der deutschen Bevölkerung zur frühzeitigen Vorhersage des zellulären Abstoßungsrisikos bei Patienten auf der Warteliste zur Nierentransplantation [132, 133].

Die untersuchten Hämodialysepatienten wiesen höhere PRT-Werte im Vergleich zu Normalprobanden auf [132]. Dies könnte dadurch bedingt sein, dass Patienten an der Hämodialyse chronischer Entzündung, Komplement-Aktivierung, aber auch vermehrt Infektionen ausgesetzt sind, was zu chronischer T-Zell-Aktivierung und konsekutiver Kreuzreaktivität von Effektor-/Memory-T-Zellen gegen HLA-Antigene führen könnte. Die im IFN- γ Elispot gemessenen alloreaktiven T-Zellen erfassen zudem zum Großteil T-Zellen, die einen Th1-Phänotyp aufweisen [92]. Sester et al. konnten zeigen, dass Patienten im terminalen Nierenversagen einen vermehrten Anteil von Th1 CD4+ T Zellen aufwiesen, der in Zusammenhang mit dysregulierter monozytärer IL-12-Produktion stand [167]. Ein vermutender Zusammenhang zu Transfusionen bei HD-Patienten konnte für die Elispot-Parameter nicht gefunden werden, im Gegensatz dazu zeigten jedoch die PRA-Werte eine hochsignifikante Korrelation zu Transfusionen [132].

Während wir in vortransplantierten Patienten eine erhöhte T-Zell-Alloreaktivität nachweisen konnten, wiesen ca. 50% der zellulär präsensibilisierten Patienten keinen historischen oder aktuellen PRA-Nachweis oder anamnestische Sensibilisierungshinweise auf [132]. Unsere Daten belegten somit, dass ein erheblicher Anteil von PRT-hochpositiven Patienten nicht mittels PRA-Test oder anamnestischen Sensibilisierungsereignissen identifiziert werden

kann. Diese Patienten könnten jedoch immunologischen Hochrisikopatienten entsprechen, was in prospektiven Studien untersucht werden sollte [124, 132].

In dem simultan durch Heegers Gruppe etablierten PRT-Test waren Patienten mit breiter PRT-Reaktivität gehäuft jüngeren Alters und Afro-Amerikaner [133]. Auch hier wurde kein Zusammenhang von humoraler und zellulärer Präsensibilisierung gefunden [133]. Somit kann auch aus dieser Arbeit geschlussfolgert werden, daß der IFN- γ Elispot-Test eine sinnvolle Ergänzung zur Detektion HLA-präsensibilisierter Patienten auf zellulärer Ebene darstellt. Tatsächlich zeigte eine Folgestudie von Poggio et al. einen prädiktiven Wert der PRT-Messungen für akute Rejektionen in 30 Nierentransplantationspatienten, der erneut unabhängig von PRA-Werten war [134].

In der dritten in dieser Arbeit vorgestellten Studie untersuchten wir zirkulierende Donor-reaktive T-Zellen in Langzeit-Nierentransplantierten Patienten mittels zweier verschiedener Methoden, um sowohl auf dem direkten Weg als auch auf dem indirekten Weg der Alloantigenerkennung aktivierte T-Zellen zu quantifizieren [128].

Wir konnten zeigen, dass direkt aktivierte Donor-reaktive T-Zellen auch lange nach Transplantation nachweisbar und mit Transplantatschädigung assoziiert waren [128]. Im Unterschied zu früheren Arbeiten, die indirekte T-Zell-Alloantworten quantifizierten, aber nicht in naive und Memory-T-Zellantworten trennen konnten, und mittels Spender-HLA-Peptiden und Limiting Dilution-Technik arbeiteten, erfaßten wir im 24h IFN- γ Elispot-Test nur Effektor-/Memory-T-Zellfrequenzen und setzten fragmentierte Donor-Zellen als Stimulatoren ein, womit potentiell mehr Spender-Antigene untersucht werden können [167, 168].

Dass trotz Abwesenheit von Spender-APZ noch Jahre nach Transplantation Frequenzen von direkt aktivierten T-Zellen nachweisbar sind, die sogar höher liegen als die vorbeschriebenen Frequenzen in der frühen Phase nach Transplantation, erklärt sich u.a. durch den von Herrera et al. erstbeschriebenen semi-direkten Weg der Alloantigenerkennung [92, 169, 170]. Hierbei nehmen Empfänger-APZ komplette Spender-HLA-Peptid-Komplexe auf und präsentieren diese den T-Zellen wie bei der direkten Alloantigenerkennung. Zudem könnten Frequenzen von Effektor-/Memory-T-Zellen wiederholte Reaktivierungen auch durch andere Spenderzellen wie Endothelien erfahren, da sie geringere Aktivierungsschwellen und Bedarf an Kostimulation zur Aktivierung aufweisen [128].

Auf der anderen Seite zeigte ein Teil der Patienten eine Donor-spezifische Hyporesponsivität, die ein geringes Risiko für alloimmunvermittelte Transplantatschädigung anzeigen könnte, da diese Gruppe die beste Nierenfunktion aufwies [128].

Auch Poggio et al. fanden mittels Elispot-Analysen des direkten Wegs und Peptid-Analysen des indirekten Wegs zum einen erhöhte direkt aktivierte T-Zell-Frequenzen, zum anderen aber auch erhöhte indirekt aktivierte T-Zell-Antworten in Patienten mit chronischer Transplantatnephropathie [171]. Ferner wurden auch vermehrt neu aufgetretene HLA-Antikörper in Patienten mit chronischer Transplantatnephropathie detektiert, die mittels Durchflusszytometrie und HLA-beschichteten Beads gemessen wurden [171], so daß hier sowohl erhöhte zelluläre als auch humorale Alloreaktivität kennzeichnend für die Patienten mit chronischer Transplantatdysfunktion waren [171].

Die Gründe für die Korrelation indirekt aktivierter T-Zellfrequenzen mit der Proteinurie im Streifentest in unserer Studie konnten bei fehlender Transplantathistologie nicht geklärt werden, und könnten beispielsweise in vermehrten humoralen Rejektionen, aber auch vermehrter anderer glomerulärer Schädigungen oder Rekurrenzen der Grunderkrankungen liegen. Die Membranpräparationen zur Stimulation indirekter T-Zell-Antworten wurden mittels dreier Zyklen von -80° Frieren und Tauen hergestellt, woraufhin keine intakten Zellen mehr nachweisbar waren, und im Western Blot Klasse I und Klasse II HLA-Moleküle nachgewiesen werden konnten. Die Stimulationsfähigkeit dieser Präparation wurde getestet, indem eine Zelllinie durch Stimulation über 6 Tage hergestellt wurde, deren Spezifität mittels Re-Stimulation nachgewiesen wurde [128].

Neue Biomarkerstudien

Standardisierungen und Kreuzvalidierungen des IFN- γ Elispot-Tests durch europäische und amerikanische Labore wurden kürzlich in Arbeiten von Ashoor et al. und Bestard et al. für das NIH-unterstützte nordamerikanische CTOT-Konsortium (Clinical Trials in Organ Transplantation) bzw. das EU-geförderte multinationale Riset-Konsortium (Reprogramming the Immune System for Establishment of Tolerance) publiziert [135,136].

Der IFN- γ Elispot-Test ist Bestandteil der im EU-Projekt „BIO-DrIM“ (Biomarker-Driven personalized Immunosuppression) getesteten Biomarker zur personalisierten Minimierung der Immunsuppression nach Organtransplantation [172]. Hier soll erstmals in 5 großen Biomarker-Studien der Versuch unternommen werden, die Langzeitergebnisse und gesundheitsökonomischen Daten der Transplantation durch Biomarker-gesteuerte Patientenstratifizierung zu verbessern [172].

Klinische Anwendung erfährt der IFN- γ Elispot-Test gegenwärtig zudem in der ONE-Studie [173]. Diese multizentrische Studie untersucht die Sicherheit und Durchführbarkeit eines Einsatzes regulatorischer T-Zell-Produkte bei Lebendspende-Nierentransplantationspatienten [173].

Non-Adhärenz

Das Problem der Non-Adhärenz ist seit längerer Zeit auch in Nierentransplantationspatienten gut beschrieben worden [174]. Da aktuelle Studien die Assoziation von späten Transplantatverlusten mit Antikörper-vermittelter Rejektion und Non-Adhärenz zeigen konnten, sollte diese in Studien künftig besser untersucht und behandelt werden, um die Transplantationsergebnisse zu optimieren [17, 18, 174]. Bestimmte Faktoren wie jüngeres Lebensalter und Zeitraum nach der Transplantation wurden mit verstärkter Non-Adhärenz assoziiert [177]. Obwohl wir in unseren Studien die Adhärenz bislang nicht erfassten, ist dies zur Abgrenzung von rein biologischen Effekten notwendig. Die bislang durchgeführten Interventionsstudien zeigten unterschiedliche, teils jedoch vielversprechende Ergebnisse [175, 176].

Polyomavirus-Nephropathie

Die Tatsache, dass die Polyomavirus-Nephropathie (PVAN) unter moderner hochdosierter Immunsuppression mit Induktionstherapie und Tacrolimus steigende Inzidenzen zeigt und eine der häufigsten Ursachen für Transplantatversagen ist, stellt einen weiteren Beleg dafür dar, dass eine unzureichende Definition immunologischer Risikofaktoren von Nierentransplantationspatienten zur Verschlechterung der Transplantationsergebnisse führen kann [17, 144-146].

Während bisher das Risiko für PVAN durch frühere Studien vor allem im Zusammenhang mit intensiver Immunsuppression und antiviraler T-Zell-Immunität untersucht wurde, gingen wir erstmals der Frage nach, ob der häufige Immundefekt einer MBL-Defizienz in Patienten nach Nierentransplantation einen Zusammenhang zur BKV-Replikation höheren oder geringeren Ausmaßes zeigen würde. Diese Frage war auch deshalb von besonderem Interesse, weil in der Organtransplantation auf der einen Seite hohe Spiegel des Mannose-bindenden Lektins mit schlechterem Patienten- und Transplantatüberleben sowie verstärktem Ischämie-Reperfusionsschaden assoziiert worden waren, andererseits aber niedrige MBL-Spiegel mit multiplen Infektionen in Zusammenhang gebracht wurden [165].

In unserer Arbeit fanden wir in Übereinstimmung mit früheren Studien [178, 179] stabile MBL-Spiegel bis zum Tag 180 nach Transplantation. Mittels einer Definition der MBL-Defizienz als <500 ng/ml fand sich in unserer Studie wie erwartet eine häufige Prävalenz der MBL-Defizienz von 24% unter den untersuchten Patienten. Dies liegt im Bereich der zuvor

beschriebenen Prävalenzen der MBL-Defizienz bei Nierentransplantierten, die zwischen 14% und 37% lagen [178-180]. Wir fanden keinen signifikanten Unterschied der MBL-Spiegel zwischen den Gruppen mit unterschiedlicher BKV-Replikation. Von Interesse war jedoch angesichts der für hohe MBL-Spiegel durch frühere Arbeiten gefundenen schlechteren Prognose für Patienten- und Transplantatüberleben, dass wir einen Trend zu niedrigeren MBL-Spiegeln in der Gruppe mit niedrigen BK-Viruslasten im Vergleich zur Gruppe mit hohen BK-Viruslasten fanden. Dieser Trend fand sich vor allem nach Ausschluss von Patienten mit akuter Rejektion. Die letztere Analyse führten wir durch, da akute Rejektion selbst ein Risikofaktor für die Entwicklung einer PVAN ist und in früheren Studien die Inzidenz von akuten Rejektionen bei hohen MBL-Spiegeln als erhöht beschrieben wurde [180].

Unsere Daten zeigen, dass eine MBL-Defizienz nicht mit erhöhtem PVAN-Risiko einhergeht, sondern lassen im Gegenteil die Hypothese zu, dass eine MBL-Defizienz im Falle einer BKV-Replikation ein geringeres Risiko für eine Progression zur BKV-Nephropathie darstellen könnte. Diese Hypothese wird einerseits durch Untersuchungen gestützt, welche beispielsweise Ischämie-Reperfusionsschäden im Kontext von Alloimmunität als Risikofaktoren für PVAN beschrieben, und andererseits durch Daten, die Ischämie-Reperfusionsschäden mit hohen MBL-Spiegeln und Lektin-abhängiger Komplementaktivierung assoziierten [139].

Von noch größerem Interesse in diesem Zusammenhang sind jedoch zwei Studien, die in letzter Zeit histologisch vermehrt C4d-Ablagerungen der tubulären Basalmembran bei PVAN zeigten, was auf eine Komplementaktivierung im Zuge einer BKV-Replikation hinweist [181, 182]. Diese Arbeiten stützen unsere Hypothese, dass im Falle niedriger MBL-Spiegel und damit konsekutiv zu erwartender geringerer lokaler Komplementaktivierung das Risiko für eine Progression einer BKV-Replikation hin zu einer PVAN geringer sein könnte.

Pneumocystis jirovecii Pneumonie

Die Pneumonie durch den Schlauchpilz *Pneumocystis jirovecii* ist eine schwere infektiöse Komplikation nach Nierentransplantation mit hoher Mortalität [150]. Die PjP zeigte in den letzten Jahren steigende Inzidenzen und gehäuft lokale Ausbrüche unter Nierentransplantierten, und betrifft immer wieder Patienten früh nach Transplantation als Phase der intensivsten Immunsuppression [150]. PjP-Ausbrüche wurden jedoch auch in der Spätphase nach Transplantation beobachtet, und immunologische Risikofaktoren sind hierfür bislang nur unzureichend belegt worden [151].

Die KDIGO-Leitlinien zur Nierentransplantation empfehlen daher eine universelle PjP-Prophylaxe mit TMP/SMX für mindestens drei bis sechs Monate nach Transplantation und

für sechs Wochen nach einer Rejektionsbehandlung [46]. Bei Verdacht auf eine PjP sollte eine Diagnosesicherung mit bronchoalveolarer Lavage und/oder Lungenbiopsie erfolgen [46]. Die antimikrobielle Therapie der ersten Wahl besteht in TMP/SMX für eine Dauer von 2-3 Wochen, als Therapiealternative wird intravenöses Pendamidin benannt [46]. Patienten mit moderater bis schwerer PjP, definiert durch PaO₂ <70 mm bei Raumluft, sollten in Analogie zu früheren HIV-Studien zusätzlich Steroide erhalten [46].

In der ersten hier vorgestellten Studie untersuchten wir im Rahmen eines Immunmonitoring-Programms 321 konsekutive Nierentransplantationspatienten unseres Zentrums, von denen 22 eine PjP im Zeitraum von 3,5 bis 13 Monaten nach Transplantation erlitten hatten, und ermittelten retrospektiv Risikofaktoren für das Auftreten einer PjP. Hierbei erfassten wir einerseits klinisch-anamnestische Risikofaktoren vor allem der ersten 3 Monate nach Transplantation vor Auftreten der PjP, andererseits untersuchten wir im Rahmen des Immunmonitorings gemessene periphere T-Zell-Zahlen und MBL-Spiegel auf einen Zusammenhang mit dem Auftreten der PjP.

Die Immunstaten umfaßten neben durchflußzytometrisch gemessenen CD3+, CD4+, CD8+ T-Lymphozytenzahlen auch CD45RA+CD31+CD4+ T-Zellen, die wir in einer vorherigen Arbeit als Rezente Thymus-Emigranten (RTE) bereits in der Frühphase nach Nierentransplantation untersucht hatten [183]. Die RTE-Frequenzen als Maß der Thymusaktivität bzw. -Funktionalität sind für die antiinfektiöse Immunantwort von potentieller Relevanz, da die Thymusfunktion mit der T-Zell-Repopulation durch naive T-Zellen nach diversen Zuständen mit T-Lymphopenien assoziiert wurde [183].

Demgegenüber stellt die homöostatische Proliferation peripherer T-Zellen einen zweiten Prozess der Repopulation dar, bei dem die proliferierenden T-Zellen allerdings einen Memory-Phänotyp erlangen, was tolerogenen Prozessen entgegensteht, und zudem nicht die hohe Diversität von T-Zell-Rezeptoren frischer Thymusemigranten aufweisen, was für die T-Zellantwort gegen infektiöse Erreger von Bedeutung sein könnte [183]. Die durchflußzytometrische Messung von CD45RA+CD31+CD4+ T-Zellen stellt eine einfach zu quantifizierende Population von naiven CD4+ T-Zellen mit Eigenschaften von frischen Thymusemigranten dar, die mit dem Alter abnimmt und in unserer früheren Studie unter Standard-Immunsuppression innerhalb der ersten 6 Monate nach Nierentransplantation stabil blieb [183].

Wir fanden in Bestätigung früherer Studien höheres Alter und vermehrte CMV-Infektionen innerhalb der ersten 3 Monate, multivariat auch akute Rejektionen innerhalb der ersten 3 Monate als Risikofaktoren für PjP im Vergleich zu den Kontrollen [153, 156, 157, 184-187]. Erstmals im Mittel 4-mal gemessene periphere Immunstaten ermöglichten uns zudem einen

Zusammenhang festzustellen zwischen altersabhängigem PjP-Risiko, altersabhängig eingeschränkter Thymusfunktion und einer CD4+ T-Lymphopenie, die bereits vor Transplantation nachweisbar war.

Tatsächlich zeigten die PjP Patienten in der ersten Auswertung ein signifikant höheres Alter. Wiederum invers korreliert mit dem Alter waren sowohl die CD4+ als auch die CD8+ T-Zell-Zahlen bereits vor Transplantation und danach bis zum Tag 180. Signifikante CD4+ T-Lymphopenie nahm unter der Immunsuppression in der Häufigkeit von 9,5% vor Transplantation auf 23-30% nach der Transplantation zu.

Wichtigstes Ergebnis der Arbeit ist jedoch, dass PjP-Patienten niedrigere CD4+ T-Zell-Zahlen bereits vor und im Mittel der Messungen nach Transplantation aufwiesen, daneben aber auch erhöhtes Alter und eingeschränkte Thymusfunktion im Vergleich zu den Kontrollen. Dies bestätigte auch eine multivariate Analyse mit Einschluss von CD4+ und RTE T-Zell-Zahlen vor Transplantation, Alter, CMV Infektionen und akuten Rejektionen der ersten 3 Monate nach Transplantation, in der nur die CD4+ T-Zellzahl und akute Rejektionen prädiktiv für PjP waren.

Dennoch konnte, wie bereits in früheren Studien bei PjP-Patienten ohne HIV-Infektion kein direkter Schwellenwert für CD4+-T-Zell-Zahlen im Zusammenhang mit einem eindeutigen PjP-Risiko definiert werden [184].

Im Vergleich zu HIV-Patienten, deren Schwellenwert von 200/ul CD4+ Zellen gut belegt ist, muss bei Nierentransplantationspatienten auch das zusätzliche immunologische Risiko durch funktionelle Defizienz der T-Zellen unter der Immunsuppression berücksichtigt werden. Neben dem Alter als Ursache abnehmender RTE und CD4+ T-Zell-Zahlen müssen auch abnehmende Kapazitäten zur Zytokinsynthese oder Proliferation als altersabhängige Risikofaktoren für PjP diskutiert werden [184].

Ein von uns zudem erstmals untersuchter Zusammenhang von MBL-Defizienz, die mit einer Häufigkeit von 22% auftrat, zum PjP-Risiko bei Nierentransplantierten konnte nicht nachgewiesen werden, obwohl die Oberflächenantigene von Pneumocystis Bindungsstellen für MBL bieten [185]. Tatsächlich wird Pneumocystis über einen Mannose-Rezeptor von Makrophagen aufgenommen [188]. MBL selbst konnte nur in entzündlichem bronchoalveolaren Sekret gefunden werden, weshalb die Rolle von MBL in der pulmonalen Infektabwehr am ehesten in der Abwehr von hämatogener Aussaat von infektiösen Erregern gesehen wurde [163]. Andere PRR wie TLR-2 könnten in der PjP-Abwehr eine wichtigere Rolle als MBL spielen [189]. Eine wichtige Limitation der Studie ist die Beschränkung auf Patienten, die mindestens 6 Monate mit intakter Transplantatfunktion überlebten.

Antibimikrobielle Therapie der PjP

In einer weiteren Arbeit untersuchten wir erstmals die Sicherheit und Effektivität von Clindamycin und Primaquin als alternatives antimikrobielles Regime im Vergleich zur Standard-Therapie mit TMP/SMX in einer Kohorte aller nierentransplantierte Patienten mit gesicherter PjP der Charité zwischen Januar 2001 und Dezember 2010. Da die Zahl von Nierentransplantierten mit PjP weltweit numerisch gering ist, finden sich in der Literatur bislang keine vergleichbaren Daten. Aus diesem Grunde bietet unsere Studie eine Reihe wertvoller Informationen. Obwohl keine vergleichenden Studien in Nierentransplantierten existieren, ist die antimikrobielle Therapie mit TMP/SMX der allgemein akzeptierte Therapiestandard [46, 152]. Die Untersuchung von Therapiealternativen ist jedoch für die Fälle von Allergien gegen TMP/SMX oder gelegentlich auftretender Unverträglichkeitsreaktionen wie Nephrotoxizität, Knochenmarksuppression oder Lebertoxizität wünschenswert [190].

Der retrospektive Charakter unserer Studie schränkt die möglichen Schlussfolgerungen naturgemäß ein. Vor allem muß berücksichtigt werden, dass Patienten mit schwerer PjP bevorzugt mit TMP/SMX behandelt wurden. Dennoch tragen einige der durch uns verwendeten Definitionen zur Vergleichbarkeit der Daten mit anderen Populationen bei. Das zeitliche Intervall für Therapieversagen wegen mangelnder Effektivität von 7 Tagen entspricht früheren Definitionen [191-192].

Die in unserer Studie beobachtete Mortalität von 12,3% liegt im bekannten Bereich für die PjP, der in der Literatur zwischen 5 bis 38% berichtet wird [150, 193].

TMP/SMX stellte sich in unserer Untersuchung retrospektiv als effektiver gegenüber C-P heraus. In der Salvagetherapie war dies am auffälligsten: 7 Patienten wurden von C-P auf TMP-SMX umgestellt und alle geheilt, während bei Umstellung von TMP/SMX auf C-P in 2 Patienten beide aufgrund eines Therapieversagens bei mangelnder Effektivität verstarben. Insgesamt erschien somit C-P zwar sicher, aber von geringerer Effektivität im Vergleich mit TMP/SMX zu sein. Tatsächlich wurden alle Patienten, die mit C-P initial behandelt wurden, im Verlauf geheilt. Entgegen unserer Erwartung fanden wir für TMP/SMX ein akzeptables Sicherheitsprofil bei leicht erhöhter Nebenwirkungsrate im Vergleich zu C-P. Unter C-P wurden keine behandlungslimitierenden Nebenwirkungen beobachtet. Tatsächlich war aber beispielsweise die höhere Rate an Nierenersatztherapie unter TMP/SMX (47% versus 22% unter C-P) am ehesten auf den höheren Anteil schwerer PjP in dieser Gruppe zurückzuführen (Nierenersatztherapie in 7/16 Patienten mit schwerer PjP versus 3/16 Patienten mit milder bis moderater PjP).

Die vorliegende Studie kann somit die Rolle von TMP/SMX als Erstlinien-Therapie in der PjP bestätigen. Da jedoch alle Patienten, die mit C-P die Therapie begannen, geheilt wurden, kann auch C-P als Alternative zu TMP/SMX im Falle von schweren Nebenwirkungen oder Allergien unter dieser Therapie erwogen werden.

4. Zusammenfassung

Für Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz im Endstadium stellt die Nierentransplantation im Falle einer Eignung zur Transplantation unverändert die beste verfügbare Nierenersatztherapie dar. Die Optimierung des Langzeit-Transplantatüberlebens erscheint angesichts des zunehmenden Mangels und der abnehmenden Qualität der Spenderorgane von hoher Dringlichkeit. Aktuelle Daten zeigen dabei Abstoßungsreaktionen als häufigste Ursache für späte Transplantatverluste in lebenden Patienten, woraus die Grenzen der bislang eingesetzten Minimierungsstrategien der medikamentösen Immunsuppression ersichtlich werden. Neue Biomarker-gesteuerte individualisierte Therapieansätze könnten zukünftig Verbesserungspotential für die Langzeitüberlebensraten bieten. Zukünftige Studien sollten die Non-Adhärenz als Risikofaktor für Transplantatverlust berücksichtigen und Interventionen zu ihrer Verbesserung untersuchen.

Der durch uns mitentwickelte IFN- γ Elispot-Test zur Quantifizierung zirkulierender Donor-reaktiver Effektor-/Memory-T-Zellen bei Nierentransplantierten stellt auf der zellulären Ebene in Analogie zur HLA-Antikörper-Messung auf der humoralen Ebenen ein Maß für abgelaufene Sensibilisierung gegen Alloantigene dar und bietet - wie erste klinische Daten zeigen - Potential für die Anwendung zur Patientenstratifizierung für Minimierungsprotokolle der Immunsuppression. Die Tatsache, dass Zell-vermittelte Rejektionen häufig früh nach Transplantation auftreten, zeigt potentielle Einsatzgebiete für die nichtinvasive Detektion zellulärer Alloreaktivität. Der Test wurde in jüngster Zeit weiter standardisiert und kreuzvalidiert. Im Rahmen der geplanten Studien des EU-Projekts „BIO-DrIM“ und der multizentrischen One-Studie ist der IFN- γ Elispot-Test Bestandteil der getesteten Biomarker zur Individualisierung der Immunsuppression nach Nierentransplantation.

In weiteren Untersuchungen fanden wir, dass eine Defizienz des Mannose-bindenden Lektins MBL keinen Risikofaktor für die Polyomavirus-Nephropathie darstellt. Im Gegenteil stellten wir die Hypothese auf, dass im Falle einer Polyomavirus-Replikation niedrige MBL-Level und damit geringere Komplementaktivierung eine geringere Tendenz zur Progression hin zur Polyomavirus-Nephropathie bedingen.

In unseren Untersuchungen zum Risiko von *Pneumocystis-jirovecii* (PjP)-Pneumonien zeigte sich erstmals ein Zusammenhang von altersabhängigem PjP-Risiko, eingeschränkter Thymusfunktion und konsekutiver CD4⁺ T-Lymphopenie früh nach Transplantation. Ein Hinweis auf einen Schwellenwert für CD4-T-Zell-Zahlen in Hinblick auf das PjP-Risiko fand sich nicht, auch war eine MBL-Defizienz nicht mit erhöhtem PjP-Risiko assoziiert.

Die durch uns durchgeführte retrospektive Kohortenanalyse aller nierentransplantierten PjP-Patienten der Jahre 2001-2010 der Charité bestätigte im Vergleich zu einem Clindamycin-Primaquin (C-P)-Regime die Rolle von Trimethoprim/Sulfamethoxazol (TMP/SMX) als Erstlinien-Therapie bei Hinweisen auf eine höhere Effektivität. Dennoch kann auf Basis unserer Daten C-P als Alternative zu TMP/SMX im Falle von schweren Nebenwirkungen oder Allergien unter dieser Therapie erwogen werden.

5. Literaturverzeichnis

1. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LY et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med.* 1999 Dec 2;341(23):1725-30
2. Schold JD, Buccini LD, Goldfarb DA, Flechner SM, Poggio ED, Sehgal AR. Association between Kidney Transplant Center Performance and the Survival Benefit of Transplantation Versus Dialysis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2014 Oct 7;9(10):1773-80
3. Ortiz F, Aronen P, Koskinen PK, Malmström RK, Finne P, Honkanen EO et al. Health-related quality of life after kidney transplantation: who benefits the most? *Transpl Int.* 2014 Nov;27(11):1143-51
4. https://www.g-ba.de/downloads/17-98-3758/2014-07-17_QSD-RL_Jahresbericht_2013_Bericht.pdf. Abgerufen am 14.11.2014
5. [www.bundesverband-niere.de/files/QuaSi-Niere-. Bericht_2006-2007.pdf](http://www.bundesverband-niere.de/files/QuaSi-Niere-Bericht_2006-2007.pdf). Abgerufen am 14.11.2014
6. http://www.dso.de/uploads/tx_dsodl/JB_2013_Web_05.pdf. Abgerufen am 14.11.2014
7. <https://www.sqg.de/sqg/upload/CONTENT/Qualitaetsberichte/2013/AQUA-Qualitaetsreport-2013.pdf>
8. Lamb KE, Lodhi S, Meier-Kriesche H-U: Long-term renal allograft survival in the United States: A critical reappraisal. *Am J Transplant* 11: 450–462, 2011
9. Collins AJ, Foley RN, Chavers B, Gilbertson D, Herzog C, Ishani A et al. US Renal Data System 2013 Annual Data Report. *Am J Kidney Dis.* 2014 Jan;63(1 Suppl), January 2014, Pages e283-e294
10. Matas AJ, Smith JM, Skeans MA, Thompson B, Gustafson SK, Schnitzler MA et al. OPTN/SRTR 2012 Annual Data Report: kidney. *Am J Transplant.* 2014 Jan;14 Suppl 1:11-44
11. El-Zoghby ZM, Stegall MD, Lager DJ, Kremers WK, Amer H, Gloor JM et al. Identifying specific causes of kidney allograft loss. *Am J Transplant.* 2009 Mar;9(3):527-35
12. Terasaki PI, Cecka JM, Gjertson DW, Takemoto S, Cho YW, Yuge J. Risk rate and long-term kidney transplant survival. *Clin Transpl.* 1996:443-58
13. Prommool S, Jhangri GS, Cockfield SM, Halloran PF. Time dependency of factors affecting renal allograft survival. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11:565
14. 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
15. Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, Vitko S, Nashan B, Gürkan A et al. ELITE-Symphony Study: Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med* 2007, 357(25):2562-2575
16. Einecke G, Sis B, Reeve J, Mengel M, Campbell PM, Hidalgo LG et al. Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. *Am J Transplant* 2009; 9: 2520
17. Sellares J, Freitas DG, Mengel M, Reeve J, Einecke G, Sis B et al. Understanding the Causes of Kidney Transplant Failure: The Dominant Role of Antibody-Mediated Rejection and Nonadherence. *Am J Transplant* 2012; 12: 388–399
18. Couzi L, Moulin B, Morin MP, Albano L, Godin M, Barrou B et al. Factors predictive of medication nonadherence after renal transplantation: a French observational study *Transplantation.* 2013 Jan 27;95(2):326-32
19. Hernandez-Fuentes, M P; Warrens, A N; Lechler, R I. Immunologic monitoring. *Immunol Rev.* 2003 Dec;196:247-64.
20. Gibson T, Medawar PB. The fate of skin homografts in man. *J Anat.* Jul 1943; 77[Pt 4]: 299–310

21. J E Murray, N L Tilney, R E Wilson. Renal transplantation: a twenty-five year experience. *Ann Surg.* 1976 November; 184(5): 565–573
22. Schweitzer EJ, Matas AJ, Gillingham KJ, Payne WD, Gores PF, Dunn DL et al. Causes of renal allograft loss. Progress in the 1980s, challenges for the 1990s. *Ann Surg* 1991; 214: 679–688
23. Ferguson R: Acute rejection episodes—best predictor of long-term primary cadaveric renal transplant survival. *Clin Transplant* 8: 328–331, 1994
24. Hariharan S, Johnson CP, Bresnahan BA, Taranto SE, McIntosh MJ, Stablein D Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1988 to 1996. *N Engl J Med.* 2000 Mar 2;342(9):605-12
25. Rush D, Nickerson P, Gough J, McKenna R, Grimm P, Cheang M et al. Beneficial effects of early subclinical rejection: A randomized study. *J Am Soc Nephrol* 9: 2129–2134, 1998
26. Legendre C, Thervet E, Skhiri H, Mamzer-Bruneel MF, Cantarovich F, Noel LH et al. Histologic features of chronic allograft nephropathy by protocol biopsies in kidney transplant recipients. *Transplantation* 65: 1506–1509, 1998
27. Nankivell BJ, Fenton-Lee CA, Kuypers DR, Cheung E, Allen RD, O'Connell PJ et al. Effect of histological damage on long-term kidney transplant outcome. *Transplantation* 71: 515–523, 2001
28. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CLS, O'Connell PO, Allen RDM, Chapman JR. Natural history, risk factors, and impact of subclinical rejection in kidney transplantation. *Transplantation* 2004; 78: 242–249
29. Rush D, Jeffery JR, Gough J. Sequential protocol biopsies in renal transplant patients. Clinico-pathological correlations using the Banff schema. *Transplantation* 1995; 59: 511–514
30. Moreso F, Ibernon M, Gomà M, Carrera M, Fulladosa X, Hueso M et al. Subclinical Rejection Associated with Chronic Allograft Nephropathy in Protocol Biopsies as a Risk Factor for Late Graft Loss. *Am J Transplant.* 2006 Apr;6(4):747-52
31. Cosio FG, Grande JP, Wadei H, Larson TS, Griffin MD, Stegall MD. Predicting subsequent decline in kidney allograft function from early surveillance biopsies. *Am J Transplant.* 2005 Oct;5(10):2464-72
32. Park WD, Griffin MD, Cornell LD, Cosio FG, Stegall MD: Fibrosis with inflammation at one year predicts transplant functional decline. *J Am Soc Nephrol* 21: 1987–1997, 2010
33. El Ters M, Grande JP, Keddiss MT, Rodrigo E, Chopra B, Dean PG et al. Kidney allograft survival after acute rejection, the value of follow-up biopsies. *Am J Transplant.* 2013 Sep;13(9):2334-41
34. Rush D, Arlen D, Boucher A, Busque S, Cockfield SM, Girardin C et al. Lack of benefit of early protocol biopsies in renal transplant patients receiving TAC and MMF: A randomized study. *Am J Transplant* 2007; 7: 2538–2545
35. Kurtkoti J, Sakhuja V, Sud K, Minz M, Nada R, Kohli HS et al. The utility of 1- and 3-month protocol biopsies on renal allograft function: A randomized controlled study. *Am J Transplant* 2008; 8: 317–323
36. Myers BD, Ross J, Newton L, Luetscher J, Perlroth M: Cyclosporine-associated chronic nephropathy. *N Engl J Med* 311:699–705,1984
37. Mihatsch MJ, Thiel G, Ryffel B. Histopathology of cyclosporine nephrotoxicity. *Transplant Proc* 1988; 20(Suppl 3): 759–771
38. Sis B, Dadras F, Khoshjou F, Cockfield S, Mihatsch MJ, Solez K. Reproducibility studies on arteriolar hyaline thickening scoring in calcineurin inhibitor-treated renal allograft recipients. *Am J Transplant* 2006; 6: 1444–1450
39. Snanoudj R, Royal V, Elie C, Rabant M, Girardin C, Morelon E et al. Specificity of histological markers of long-term CNI nephrotoxicity in kidney-transplant recipients under low-dose cyclosporine therapy. *Am J Transplant.* 2011 Dec;11(12):2635-46
40. Stegall MD, Park WD, Larson TS, Gloor JM, Cornell LD, Sethi S et al. The histology of solitary renal allografts at 1 and 5 years after transplantation. *Am J Transplant.* 2011 Apr;11(4):698-707

41. Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H, Burdick JF, Cohen AH, Colvin RB et al. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int* 1993; 44: 411–422
42. Nashan B, Moore R, Amlot P, Schmidt AG, Abeywickrama K, Souillou JP. Randomised trial of basiliximab versus placebo for control of acute cellular rejection in renal allograft recipients. CHIB 201 International Study Group. *Lancet*. 1997 Oct 25;350(9086):1193-8
43. Vincenti F, Kirkman R, Light S, Bumgardner G, Pescovitz M, Halloran P et al. Interleukin-2-receptor blockade with daclizumab to prevent acute rejection in renal transplantation. Daclizumab Triple Therapy Study Group. *N Engl J Med*. 1998 Jan 15;338(3):161-5
44. Lindholm A, Albrechtsen D, Frodin L, Tufveson G, Persson NH, Lundgren G. Ischemic heart disease—major cause of death and graft loss after renal transplantation in Scandinavia. *Transplantation* 1995; 60: 451–457
45. Vanrenterghem YF, Claes K, Montagnino G, Fieuws S, Maes B, Villa M et al. Risk factors for cardiovascular events after successful renal transplantation. *Transplantation* 2008; 85: 209–216
46. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am. J. Transplant*. 2009;9 Suppl 3:S1–155
47. Heemann U, Abramowicz D, Spasovski G, Vanholder R. European Renal Best Practice Work Group on Kidney Transplantation. Endorsement of the Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) guidelines on kidney transplantation: a European Renal Best Practice (ERBP) position statement. *Nephrol Dial Transplant*. 2011 Jul;26(7):2099-106.
48. Bia M, Adey DB, Bloom RD, Chan L, Kulkarni S, Tomlanovich S. KDOQI US commentary on the 2009 KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Kidney Dis*. 2010 Aug;56(2):189-218
49. Kälble T, Alcaraz A, Budde K et al. Immunosuppression after kidney transplantation. In: *Guidelines on renal transplantation*. European Association of Urology (EAU): Arnhem, The Netherlands: 2010
50. Ahsan N, Hricik D, Matas A, Rose S, Tomlanovich S, Wilkinson A, et al. Prednisone withdrawal in kidney transplant recipients on cyclosporine and mycophenolate mofetil—a prospective randomized study. Steroid Withdrawal Study Group. *Transplantation* 1999; 68: 1865–1874
51. Rostaing L, Cantarovich D, Mourad G, Budde K, Rigotti P, Mariat C et al. Corticosteroid-free immunosuppression with tacrolimus, mycophenolate mofetil, and daclizumab induction in renal transplantation. *Transplantation* 2005, 79(7):807-814
52. Woodle ES, First MR, Pirsch J, Shihab F, Gaber AO, Van Veldhuisen P. A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial comparing early (7 day) corticosteroid cessation versus long-term, low-dose corticosteroid therapy *Ann Surg*. 2008 Oct;248(4):564-77
53. Pascual J, Zamora J, Galeano C, Royuela A, Quereda C. Steroid avoidance or withdrawal for kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009 Jan 21;(1)
54. Sehgal SN, Bansbach CC. Rapamycin: In vitro profile of a new immunosuppressive macrolide. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 685: 58–67
55. Meier-Kriesche HU, Steffen BJ, Chu AH, Loveland JJ, Gordon RD, Morris JA, Kaplan B Sirolimus with neoral versus mycophenolate mofetil with neoral associated with decreased renal allograft survival. *Am J Transplant* 2004; 4: 2058–2066
56. Letavernier E, Peraldi MN, Pariente A, Morelon E, Legendre C. Proteinuria following a switch from calcineurin inhibitors to sirolimus. *Transplantation* 2005; 80: 1198–1203
57. Groth CG, Bäckman L, Morales JM, Calne R, Kreis H, Lang Pet al. Sirolimus (rapamycin)-based therapy in human renal transplantation: similar efficacy and different toxicity compared with cyclosporine. Sirolimus European Renal Transplant Study Group. *Transplantation* 1999; 67: 1036–1042

58. Kreis H, Cisterne JM, Land W, Wramner L, Squifflet JP, Abramowicz D et al. Sirolimus in association with mycophenolate mofetil induction for the prevention of acute graft rejection in renal allograft recipients. *Transplantation* 2000; 69: 1252–1260
59. Larson TS, Dean PG, Stegall MD, Griffin MD, Textor SC, Schwab TR, et al. Complete avoidance of calcineurin inhibitors in renal transplantation: A randomized trial comparing sirolimus and tacrolimus. *Am J Transplant* 2006; 6: 514–522
60. Büchler M, Caillard S, Barbier S, Thervet E, Toupance O, Mazouz H et al. Sirolimus versus cyclosporine in kidney recipients receiving thymoglobulin, mycophenolate mofetil and a 6-month course of steroids. *Am J Transplant* 2007; 7: 2522–2531
61. Flechner SM, Goldfarb D, Solez K, Modlin CS, Mastroianni B, Savas K et al. Kidney transplantation with sirolimus and mycophenolate mofetil-based immunosuppression: 5-year results of a randomized prospective trial compared to calcineurin inhibitor drugs. *Transplantation* 2007; 83: 883–892
62. Larson TS, Dean PG, Hamdy AF, Bakr MA, Ghoneim MA. Long-term efficacy and safety of a calcineurin inhibitor-free regimen in live-donor renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 1225–1232
63. Glotz D, Charpentier B, Abramowicz D, Lang P, Rostaing L, Rife G, et al. Thymoglobulin induction and sirolimus versus tacrolimus in kidney transplant recipients receiving mycophenolate mofetil and steroids. *Transplantation* 2010; 89: 1511–1517
64. Flechner SM, Glyda M, Cockfield S, Grinyó J, Legendre Ch, Russ G et al. The ORION study: comparison of two sirolimus-based regimens versus tacrolimus and mycophenolate mofetil in renal allograft recipients. *Am J Transplant*. 2011 Aug;11(8):1633-44
65. Sharif A, Shabir S, Chand S, Cockwell P, Ball S, Borrowers R. et al. Meta-analysis of calcineurin-inhibitor-sparing regimens in kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22: 2107–2118
66. Isakova T, Xie H, Messinger S, Cortazar F, Scialla JJ, Guerra G et al. Inhibitors of mTOR and risks of allograft failure and mortality in kidney transplantation. *Am J Transplant* 2013; 13: 100–110
67. Cortazar F, Molnar MZ, Isakova T, Czira ME, Kovesdy CP, Roth D et al. Clinical Outcomes in Kidney Transplant Recipients Receiving Long-Term Therapy With Inhibitors of the Mammalian Target of Rapamycin. *Am J Transplant* 2012; 12: 379–387
68. Schena FP, Pascoe MD, Alberu J, del Carmen Rial M, Oberbauer R, Brennan DC et al. 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 Jan 27;87(2):233-42
69. Lebranchu Y, Thierry A, Toupance O, Westeel PF, Etienne I, Thervet E et al. Efficacy on renal function of early conversion from cyclosporine to sirolimus 3 months after renal transplantation: concept study. *Am J Transplant*. 2009 May;9(5):1115-23
70. Weir MR, Mulgaonkar S, Chan L, Shidban H, Waid TH, Preston D et al. Mycophenolate mofetil-based immunosuppression with sirolimus in renal transplantation: a randomized, controlled Spare-the-Nephron trial. *Kidney Int*. 2011 Apr;79(8):897-907
71. Budde K, Becker T, Arns W, Sommerer C, Reinke P, Eisenberger U et al. Everolimus-based, calcineurin-inhibitor-free regimen in recipients of de-novo kidney transplants: an open-label, randomised, controlled trial. *Lancet*. 2011 Mar 5;377(9768):837-47
72. Budde K, Lehner F, Sommerer C, Arns W, Reinke P, Eisenberger U et al. Conversion from cyclosporine to everolimus at 4.5 months posttransplant: 3-year results from the randomized ZEUS study. *Am J Transplant*. 2012 Jun;12(6):1528-40
73. Liefeldt L, Brakemeier S, Glander P, Waiser J, Lachmann N, Schönemann C et al. Donor-specific HLA antibodies in a cohort comparing everolimus with cyclosporine after kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2012 May;12(5):1192-8

74. Euvrard S, Morelon E, Rostaing L, Goffin E, Brocard A, Tromme I et al. Sirolimus and secondary skin-cancer prevention in kidney transplantation. *N Engl J Med*. 2012 Jul 26;367(4):329-39
75. 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 Oct 15;80(7):883-9
76. Guba M, Pratschke J, Hugo C, Krämer BK, Nohr-Westphal C, Brockmann J et al. Renal function, efficacy, and safety of sirolimus and mycophenolate mofetil after short-term calcineurin inhibitor-based quadruple therapy in de novo renal transplant patients: one-year analysis of a randomized multicenter trial. *Transplantation*. 2010 Jul 27;90(2):175-83
77. Brennan DC, Legendre C, Patel D, Mange K, Wiland A, McCague K et al. Cytomegalovirus incidence between everolimus versus mycophenolate in de novo renal transplants: pooled analysis of three clinical trials. *Am J Transplant*. 2011 Nov;11(11):2453-62
78. Benavides CA, Pollard VB, Mauiyyedi S, Podder H, Knight R, Kahan BD. BK virus-associated nephropathy in sirolimus-treated renal transplant patients: incidence, course, and clinical outcomes. *Transplantation*. 2007 Jul 15;84(1):83-8
79. Vincenti F, Larsen C, Durrbach A, Wekerle T, Nashan B, Blancho G et al. Costimulation blockade with belatacept in renal transplantation. *N Engl J Med*. 2005 Aug 25;353(8):770-81
80. Vincenti F, Blancho G, Durrbach A, Friend P, Grinyo J, Halloran PF et al. Five-year safety and efficacy of belatacept in renal transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2010 Sep;21(9):1587-96
81. Pestana JO, Grinyo JM, Vanrenterghem Y, Becker T, Campistol JM, Florman S et al. Three-year outcomes from BENEFIT-EXT: a phase III study of belatacept versus cyclosporine in recipients of extended criteria donor kidneys. *Am J Transplant*. 2012 Mar;12(3):630-9
82. Vincenti F, Charpentier B, Vanrenterghem Y, Rostaing L, Bresnahan B, Darji P et al. A phase III study of belatacept-based immunosuppression regimens versus cyclosporine in renal transplant recipients (BENEFIT study). *Am J Transplant*. 2010 Mar;10(3):535-46
83. Vincenti F, Larsen CP, Alberu J, Bresnahan B, Garcia VD, Kothari J et al. Three-year outcomes from BENEFIT, a randomized, active-controlled, parallel-group study in adult kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2012 Jan; 12(1):210-7
84. Vincenti F, Yang H, Klintmalm G, Steinberg S, Wang L, Zhang W et al. Clinical Outcomes in a Phase 1b, Randomized, Double-Blind, Parallel Group, Placebo-Controlled, Single-Dose Study of ASKP1240 in De Novo Kidney Transplantation. *Am J Transpl*. 2013;13 Suppl 5:abstr 181
85. Busque S, Leventhal J, Brennan DC, Steinberg S, Klintmalm G, Shah T et al. Calcineurin-Inhibitor-Free Immunosuppression Based on the JAK Inhibitor CP-690,550: A Pilot Study in De Novo Kidney Allograft Recipients. *Am J Transplant*. 2009; 9: 1936-1945
86. Vincenti F. Are calcineurin inhibitors-free regimens ready for prime time? *Kidney Int*. 2012 Nov;82(10):1054-60
87. Lo DJ, Kaplan B, Kirk AD. Biomarkers for kidney transplant rejection. *Nat Rev Nephrol*. 2014 Apr;10[4]:215-25
88. Menke J, Sollinger D, Schamberger B, Heemann U, Lutz J. The effect of ischemia/reperfusion on the kidney graft. *Curr Opin Organ Transplant*. 2014 Aug;19(4):395-400
89. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 2010; 140: 805
90. Nickel P, Lacha J, Ode-Hakim S, Sawitzki B, Babel N, Frei U et al. Cytotoxic effector molecule gene expression in acute renal allograft rejection: correlation with clinical outcome; histopathology and function of the allograft. *Transplantation*. 2001 Sep 27;72(6):1158-60

91. Nickel P, Bestard O, Volk HD, Reinke P. Diagnostic value of T-cell monitoring assays in kidney transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2009 Aug;14(4):426-31
92. Wood KJ, Goto R. Mechanisms of Rejection: Current Perspectives. *Transplantation* 2012;93: 1–10
93. Lefaucheur C, Loupy A, Vernerey D, Duong-Van-Huyen JP, Suberbielle C, Anglicheau D et al. Antibody-mediated vascular rejection of kidney allografts: a population-based study. *Lancet* 2013; 381: 313 – 319
94. Dragun D, Müller DN, Bräsen JH, Fritsche L, Nieminen-Kelhä M, Dechend R et al. Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med*. 2005 Feb 10;352(6):558-69
95. Tait BD, Süsal C, Gebel HM, Nickerson PW, Zachary AA, Claas FH et al. Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and non-HLA antibodies in transplantation. *Transplantation*. 2013 Jan 15;95(1):19-47
96. Adams AB, Williams MA, Jones TR, Shirasugi N, Durham MM, Kaech SM et al. Heterologous immunity provides a potent barrier to transplantation tolerance. *J. Clin. Invest*. 2003; 111:1887–1895
97. Amir AL, D'Orsogna LJ, Roelen DL, van Loenen MM, Hagedoorn RS, de Boer R et al. Allo-HLA reactivity of virus-specific memory T cells is common. *Blood*. 2010 Apr 15;115(15):3146-57
98. Brennan DC, Daller JA, Lake KD, Cibrik D, Del Castillo D; Thymoglobulin Induction Study Group. Rabbit antithymocyte globulin versus basiliximab in renal transplantation. *N Engl J Med* 2006; 355: 1967–1977
99. Magliocca JF, Knechtle SJ. The evolving role of alemtuzumab (Campath-1H) for immunosuppressive therapy in organ transplantation. *Transpl Int*. 2006 Sep;19(9):705-14
100. Shapiro R, Basu A, Tan H, Gray E, Kahn A, Randhawa P et al. Kidney transplantation under minimal immunosuppression after pretransplant lymphoid depletion with Thymoglobulin or Campath. *J Am Coll Surg* 2005; 200: 505
101. Ferrari-Lacraz S, Tiercy JM, Villard J. Detection of anti-HLA antibodies by solid-phase assay in kidney transplantation: friend or foe? *Tissue Antigens*. 2012 May;79(5):315-25
102. Claas FH, Rahmel A, Doxiadis II Enhanced kidney allocation to highly sensitized patients by the acceptable mismatch program. *Transplantation*. 2009 Aug 27;88(4):447-52
103. Gaston RS, Cecka JM, Kasiske BL, Fieberg AM, Leduc R, Cosio FC et al. Evidence for antibody-mediated injury as a major determinant of late kidney allograft failure. *Transplantation*. 2010 Jul 15; 90(1):68-74
104. Loupy A, Lefaucheur C, Vernerey D, Prugger C, Duong van Huyen JP, Mooney N et al. Complement-binding anti-HLA antibodies and kidney-allograft survival. *N Engl J Med*. 2013 Sep 26;369(13):1215-2
105. Sellarés J, Reeve J, Loupy A, Mengel M, Sis B, Skene A et al. Molecular diagnosis of antibody-mediated rejection in human kidney transplants *Am J Transplant*. 2013 Apr;13(4):971-83
106. Halloran PF, Pereira AB, Chang J, Matas A, Picton M, De Freitas D et al. Potential impact of microarray diagnosis of T cell-mediated rejection in kidney transplants: The INTERCOM study. *Am J Transplant*. 2013 Sep;13(9):2352-63
107. Halloran PF, Chang J, Famulski K, Hidalgo LG, Salazar ID, Merino Lopez M et al. Disappearance of T Cell-Mediated Rejection Despite Continued Antibody-Mediated Rejection in Late Kidney Transplant Recipients. *J Am Soc Nephrol*. 2014 Nov 6. pii: ASN.2014060588
108. Haas M, Sis B, Racusen LC, Solez K, Glotz D, Colvin RB et al. Banff 2013 meeting report: inclusion of c4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am J Transplant*. 2014 Feb;14(2):272-83
109. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, Karpinski M, Ho J, Storsley LJ et al. Evolution and Clinical Pathologic Correlations of De Novo Donor-Specific HLA Antibody Post Kidney Transplant . *Am J Transplant*. 2012; 12: 1157–1167

110. Everly MJ, Rebellato LM, Haisch CE, Ozawa M, Parker K, Briley KP et al. Incidence and impact of de novo donor-specific alloantibody in primary renal allografts. *Transplantation*. 2013 Feb 15;95(3):410-7
111. Lachmann N, Terasaki PI, Schönemann C. Donor-specific HLA antibodies in chronic renal allograft rejection: A prospective trial with a four-year follow-up. *Clin Transpl*. 2006; 171–199
112. de Kort H, Willicombe M, Brookes P, Dominy KM, Santos-Nunez E, Galliford JW et al. Microcirculation inflammation associates with outcome in renal transplant patients with de novo donor-specific antibodies. *Am J Transplant*. 2013; 13: 485–492
113. Cooper JE, Gralla J, Cagle L, Goldberg R, Chan L, Wiseman AC, per JE, Gralla J, Cagle L et al. Inferior kidney allograft outcomes in patients with de novo donor-specific antibodies are due to acute rejection episodes. *Transplantation*. 2011; 91:1103–1109
114. Hourmant M, Cesbron-Gautier A, Terasaki PI, Mizutani K, Moreau A, Meurette A et al. Frequency and clinical implications of development of donor-specific and non-donor-specific HLA antibodies after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2005 Sep;16(9):2804-12
115. Wiebe C, Nickerson P. Posttransplant monitoring of de novo human leukocyte antigen donor-specific antibodies in kidney transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2013 Aug;18(4):470-7
116. Gibson IW, Gwinner W, Bröcker V, Sis B, Riopel J, Roberts IS et al. Peritubular capillaritis in renal allografts: prevalence, scoring system, reproducibility and clinicopathological correlates. *Am J Transplant*. 2008 Apr;8(4):819-25
117. Sawitzki B, Schlickeiser S, Reinke P, Volk HD. Monitoring tolerance and rejection in organ transplant recipients. *Biomarkers*. 2011 Jul;16 Suppl 1:S42-50
118. Li L, Khatri P, Sigdel TK, Tran T, Ying L, Vitalone MJ et al. A peripheral blood diagnostic test for acute rejection in renal transplantation. *Am J Transplant*. 2012 Oct;12(10):2710-8
119. Suthanthiran M, Schwartz JE, Ding R, Abecassis M, Dadhania D, Samstein B et al. Urinary-cell mRNA profile and acute cellular rejection in kidney allografts. *N Engl J Med*. 2013 Jul 4;369(1):20-31
120. Hricik DE, Nickerson P, Formica RN, Poggio ED, Rush D, Newell KA et al. Multicenter validation of urinary CXCL9 as a risk-stratifying biomarker for kidney transplant injury. *Am J Transplant*. 2013 Oct;13(10):2634-44
121. Volk HD, Kern F. Insights into the Specificity and Function of (Allo)antigen-reactive T Cells. *American Journal of Transplantation*. 2001; 1: 109–114
122. Heeger PS, Greenspan NS, Kuhlenschmidt S, DeJelo C, Hricik DE, Schulak JA et al. Pretransplant frequency of donor-specific, IFN-gamma-producing lymphocytes is a manifestation of immunologic memory and correlates with the risk of posttransplant rejection episodes. *J Immunol*. 1999;163:2267–75
123. Hricik DE, Rodriguez V, Riley J, Bryan K, Tary-Lehmann M, Greenspan N et al. Enzyme linked immunosorbent spot (ELISPOT) assay for interferon-gamma independently predicts renal function in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2003 Jul;3(7):878-84
124. Nickel P, Presber F, Bold G, Biti D, Schönemann C, Tullius SG et al. Enzyme-linked immunosorbent spot assay for donor-reactive interferon-gamma-producing cells identifies T-cell presensitization and correlates with graft function at 6 and 12 months in renal-transplant recipients. *Transplantation*. 2004 Dec 15;78(11):1640-6
125. Näther BJ, Nickel P, Bold G, Presber F, Schönemann C, Pratschke J et al. Modified ELISPOT technique-highly significant inverse correlation of post-Tx donor-reactive IFN-gamma-producing cell frequencies with 6 and 12 months graft function in kidney transplant recipients. *Transpl Immunol*. 2006 Nov;16(3-4):232-7
126. Augustine JJ, Siu DS, Clemente MJ, Schulak JA, Heeger PS, Hricik DE. Pre-transplant IFN-gamma ELISPOTs are associated with post-transplant renal function in African American renal transplant recipients. *Am J Transplant*. 2005 Aug;5(8):1971-5

127. Augustine JJ, Poggio ED, Clemente M, Aeder MI, Bodziak KA, Schulak JA, et al. Hemodialysis vintage, black ethnicity, and pretransplantation antidonor cellular immunity in kidney transplant recipients. *J Am Soc Nephrol*. 2007 May;18(5):1602-6
128. Bestard O, Nickel P, Cruzado JM, Schoenemann C, Boenisch O, Sefrin A et al. Circulating alloreactive T cells correlate with graft function in longstanding renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol*. 2008 Jul;19(7):1419-29
129. Augustine JJ, Poggio ED, Heeger PS, Hricik DE. Preferential benefit of antibody induction therapy in kidney recipients with high pretransplant frequencies of donor-reactive interferon-gamma enzyme-linked immunosorbent spots. *Transplantation*. 2008 Aug 27;86(4):529-34
130. Cherkassky L, Lanning M, Lalli PN, Czerr J, Siegel H, Danziger-Isakov L et al. Evaluation of alloreactivity in kidney transplant recipients treated with antithymocyte globulin versus IL-2 receptor blocker. *Am J Transplant*. 2011 Jul;11(7):1388-96
131. Bestard O, Cruzado JM, Lucia M, Crespo E, Casis L, Sawitzki B et al. Prospective assessment of antidonor cellular alloreactivity is a tool for guidance of immunosuppression in kidney transplantation. *Kidney Int*. 2013 Dec;84(6):1226-36
132. Andree H, Nickel P, Nasiadko C, Hammer MH, Schönemann C, Pruss A et al. Identification of dialysis patients with panel-reactive memory T cells before kidney transplantation using an allogeneic cell bank. *J Am Soc Nephrol*. 2006 Feb;17(2):573-80
133. Poggio ED, Clemente M, Hricik DE, Heeger PS. Panel of reactive T cells as a measurement of primed cellular alloimmunity in kidney transplant candidates. *J Am Soc Nephrol*. 2006 Feb;17(2):564-72
134. Poggio ED, Augustine JJ, Clemente M, Danzig JM, Volokh N, Zand MS. Pretransplant cellular alloimmunity as assessed by a panel of reactive T cells assay correlates with acute renal graft rejection. *Transplantation*. 2007 Apr 15;83(7):847-52
135. Ashoor I, Najafian N, Korin Y, Reed EF, Mohanakumar T, Ikle D et al. Standardization and cross validation of alloreactive IFN γ ELISPOT assays within the clinical trials in organ transplantation consortium. *Am J Transplant*. 2013 Jul;13(7):1871-9
136. Bestard O, Crespo E, Stein M, Lúcia M, Roelen DL, de Vaal YJ et al. Cross-validation of IFN- γ Elispot assay for measuring alloreactive memory/effector T cell responses in renal transplant recipients. *Am J Transplant*. 2013 Jul;13(7):1880-90
137. Knowles WA. Discovery and epidemiology of the human polyomavirus BK virus (BKV) and JC virus (JCV). *Adv Exp Med Biol* 2006; 577: 19–45
138. Nickeleit V, Singh HK, Mihatsch MJ. Polyomavirus nephropathy: morphology, pathophysiology, and clinical management. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2003; 12: 599-605
139. Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Hirsch HH, Wali R, Crowder C, Nogueira J et al. Histological patterns of polyomavirus nephropathy: correlation with graft outcome and viral load. *Am J Transplant* 2004; 4: 2082-2092
140. Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB, Ginevri F, Gordon J, Limaye AP et al. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations. *Transplantation*. 2005 May 27;79(10):1277-86
141. Hirsch HH, Vincenti F, Friman S, Tuncer M, Citterio F, Wiecek A et al. Polyomavirus BK replication in de novo kidney transplant patients receiving tacrolimus or cyclosporine: a prospective, randomized, multicenter study. *Am J Transplant*. 2013 Jan;13(1):136-45
142. Kean JM, Rao S, Wang M, Garcea RL. Seroepidemiology of human polyomaviruses. *PLoS Pathog*. 2009 Mar;5(3):e1000363
143. Schold JD, Rehman S, Kayler LK, Magliocca J, Srinivas TR, MeierKriesche HU. Treatment for BK virus: Incidence, risk factors and outcomes for kidney transplant recipients in the United States. *Transpl Int* 2009; 22: 626–634
144. Dharnidharka VR, Cherikh WS, Abbott KC. An OPTN analysis of national registry data on treatment of BK virus allograft nephropathy in the United States. *Transplantation*. 2009; 87: 1019–1026

145. Hirsch HH, Steiger J, Mihatsch MJ. Immunosuppression and BKV Nephropathy. *N Engl J Med.* 2002; 347: 2079
146. Brennan DC, Agha I, Bohl DL, Schnitzler MA, Hardinger KL, Lockwood M et al. Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *Am J Transplant.* 2005; 5(3): 582-594
147. Babel N, Volk HD, Petra Reinke. BK polyomavirus infection and nephropathy: the virus-immune system interplay. *Nat Rev Nephrol.* 2011 May24; 7(7), 399-406
148. Ginevri F, Azzi A, Hirsch HH, Basso S, Fontana I, Cioni M et al. Prospective monitoring of polyomavirus BK replication and impact of pre-emptive intervention in pediatric kidney recipients. *Am J Transplant.* 2007; 7: 2727–2735
149. Schaub S, Hirsch HH, Dickenmann M, Steiger J, Mihatsch MJ, Hopfer H et al. Reducing immunosuppression preserves allograft function in presumptive and definitive polyomavirus-associated nephropathy. *Am J Transplant.* 2010; 10: 2615–2623
150. De Boer MGJ, De Fijter JW, Kroon FP. Outbreaks and clustering of *Pneumocystis pneumonia* in kidney transplant recipients: a systematic review. *Med Mycol.* 2011;49(7):673–80
151. Wynckel A, Toubas D, Noël N, Toupance O, Rieu P. Outbreak of *Pneumocystis pneumonia* occurring in late post-transplantation period. *Nephrol Dial Transplant.* 2011;26(7):2417-2417
152. Martin SI, Fishman JA. *Pneumocystis pneumonia* in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant.* 2009;9:S227–33
153. Eitner F, Hauser IA, Rettkowski O, Rath T, Lopau K, Pliquett RU et al. Risk factors for *Pneumocystis jirovecii pneumonia* (PcP) in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant.* 2011 Jun;26(6):2013-7
154. Carmona EM, Limper AH. Update on the diagnosis and treatment of *Pneumocystis pneumonia*. *Ther Adv Respir Dis.* 2011 Feb;5(1):41-59
155. Choukri F, Menotti J, Sarfati C, Lucet JC, Nevez G, Garin YJ et al. Quantification and spread of *Pneumocystis jirovecii* in the surrounding air of patients with *Pneumocystis pneumonia*. *Clin Infect Dis.* 2010 Aug 1;51(3):259-65
156. De Boer MGJ, Kroon FP, Le Cessie S, De Fijter JW, Van Dissel JT. Risk factors for *Pneumocystis jirovecii pneumonia* in kidney transplant recipients and appraisal of strategies for selective use of chemoprophylaxis. *Transpl Infect Dis* 2011;13(6): 559–69
157. Neff RT, Jindal RM, Yoo DY, Hurst FP, Agodoa LY, Abbott KC. Analysis of USRDS: incidence and risk factors for *Pneumocystis jirovecii pneumonia*. *Transplantation.* 2009;88(1):135–41
158. Carmona EM, Limper AH. Update on the diagnosis and treatment of *pneumocystis pneumonia*. *Ther Adv Respir Dis.* 2001;5:41–59
159. Fraser TN, Avellaneda AA, Graviss EA, Musher DM. Acute kidney injury associated with trimethoprim/sulfamethoxazole. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67:1271–7
160. Minchinton RM, Dean MM, Clark TR, Heatley S, Mullighan CG. Analysis of the relationship between mannose-binding lectin (MBL) genotype, MBL levels and function in an Australian blood donor population. *Scand J Immunol.* 2002 Dec;56(6):630-41
161. K. Gupta, R.K. Gupta, K. Hajela. Disease associations of mannose-binding lectin & potential of replacement therapy. *Indian J Med Res,* 127 (5) (2008), pp. 431–440
162. Ip WK, Takahashi K, Ezekowitz RA, Stuart LM. Mannose-binding lectin and innate immunity. *Immunol Rev.* 2009 Jul;230(1):9-21
163. Eisen DP, Dean MM, Boermeester MA, Fidler KJ, Gordon AC, Kronborg G et al. Low serum mannose-binding lectin level increases the risk of death due to pneumococcal infection. *Clin Infect Dis.* 2008 Aug 15;47(4):510-6
164. Hoeflich C, Unterwaller N, Schuett S, Schmolke K, Boenisch O, Hammer M et al. Clinical manifestation of mannose-binding lectin deficiency in adults independent of concomitant immunodeficiency. *Hum Immunol.* 2009 Oct;70(10):809-12

165. Berger SP, Daha, MR. Emerging role of the mannose-binding lectin-dependent pathway of complement activation in clinical organ transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2011, 16:28–33
166. Sester U, Sester M, Hauk M, Kaul H, Kohler H, Girndt M. T-cell activation follows Th1 rather than Th2 pattern in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2000 Aug;15(8):1217-23.
167. Vella JP, Spadafora-Ferreira M, Murphy B, Alexander SI, Harmon W, Carpenter CB et al. Indirect allorecognition of major histocompatibility complex allopeptides in human renal transplant recipients with chronic graft dysfunction. *Transplantation* 1997 Sep 27;64(6):795-800
168. Baker RJ, Hernandez-Fuentes MP, Brookes PA, Chaudhry AN, Cook HT, Lechler RI: Loss of direct and maintenance of indirect alloresponses in renal allograft recipients: Implications for the pathogenesis of chronic allograft nephropathy. *J Immunol* 2001 Dec 15;167(12):7199-206.
169. Herrera OB, Golshayan D, Tibbott R, Ochoa FS, James MJ, Marelli-Berg FM et al.: A novel pathway of alloantigen presentation by dendritic cells. *J Immunol* 2004 Oct 15; 173(8): 4828–4837
170. Afzali B, Lombardi G, Lechler RI. Pathways of major histocompatibility complex allorecognition. *Curr Opin Organ Transplant*. 2008; 13: 438
171. Poggio ED, Clemente M, Riley J, Roddy M, Greenspan N, DeJelo C et al. Alloreactivity in renal transplant recipients with and without chronic allograft nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 15: 1952–1960, 2004
172. <http://www.biodrim.eu>
173. <http://www.onestudy.org>
174. Butler JA, Roderick P, Mullee M, Mason JC, Peveler RC. Frequency and impact of nonadherence to immunosuppressants after renal transplantation: a systematic review. *Transplantation*. 2004 Mar 15;77(5):769-76
175. De Bleser L, Matteson M, Dobbels F, Russell C, De Geest S. Interventions to improve medication-adherence after transplantation: a systematic review. *Transpl Int*. 2009 Aug;22(8):780-97;
176. Joost R, Dörje F, Schwitulla J, Eckardt KU, Hugo C Intensified pharmaceutical care is improving immunosuppressive medication adherence in kidney transplant recipients during the first post-transplant year: a quasi-experimental study. *Nephrol Dial Transplant*. 2014 Aug;29(8):1597-607]
177. Weng FL, Chandwani S, Kurtyka KM, Zacker C, Chisholm-Burns MA, Demissie K. Prevalence and correlates of medication non-adherence among kidney transplant recipients more than 6 months post-transplant: a cross-sectional study. *BMC Nephrol*. 2013 Dec 1;14:261
178. Ghods FJ, Solgi G, Amirzargar AA, Nikbin B, Ghods AJ. High frequency of clinically significant infections and cytomegalovirus disease in kidney transplant recipients with serum mannose-binding lectin deficiency. *Iran J Kidney Dis*. 2009;3(1):28–33
179. Ibernón M, Moreso F, Moreno JM, Bestard O, Cruzado JM, Grinyó JM, et al. Low serum mannose-binding lectin as a risk factor for new onset diabetes mellitus after renal transplantation. *Transplantation*. 2009;88:272–8
180. Berger SP, Roos A, Mallat MJ, Fujita T, de Fijter JW, Daha MR, et al. Association between mannose-binding lectin levels and graft survival in kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2005;5:1361
181. Batal I, Zainah H, Stockhausen S, Basu A, Tan H, Shapiro R, et al. The significance of renal C4d staining in patients with BK viremia, viremia, and nephropathy. *Mod Pathol*. 2009;22(11):1468–76.
182. Honsová E, Lodererová A, Viklický O, Boucek P. BK-virus nephropathy and simultaneous C4d positive staining in renal allografts. *Cesk Patol*. 2005;41(4): 163–6
183. Nickel P, Kreutzer S, Bold G, Friebe A, Schmolke K, Meisel C et al. CD31+ naïve Th cells are stable during six months following kidney transplantation: implications for post-transplant thymic function. *Am J Transplant*. 2005;5:1764

184. Schürmann M, Schürmann D, Schindler R, Meisel C, Liman P, Kruse J et al. Impaired thymic function and CD4+ T lymphopenia, but not mannose-binding lectin deficiency, are risk factors for *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in kidney transplant recipients *Transpl Immunol.* 2013 Jun;28(4):159-63.]
185. Branten AJ, Beckers PJ, Tiggeler RG, Hoitsma AJ. *Pneumocystis carinii* pneumonia in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant.* 1995;10(7):1194-7
186. Arend SM, Westendorp RG, Kroon FP, Van't Wout JW, Vandembroucke JP, Van Es LA et al. Rejection treatment and cytomegalovirus infection as risk factors for *Pneumocystis carinii* pneumonia in renal transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 1996;22(6):920-5
187. Radisic M, Lattes R, Chapman JF, Del Carmen Rial M, Guardia O, Seu F, et al. Risk factors for *Pneumocystis carinii* pneumonia in kidney transplant recipients: a case-control study. *Transpl Infect Dis.* 2003;5(2):84-93
188. Ezekowitz RA, Williams DJ, Koziel H, Armstrong MY, Warner A, Richards FF, et al. Uptake of *Pneumocystis carinii* mediated by the macrophage mannose receptor. *Nature.* 1991;351(6322):155-8
189. Kelly MN, Shellito JE. Current understanding of *Pneumocystis* immunology. *Future Microbiol* 2010;5(1):43-65
190. Fraser TN, Avellaneda AA, Graviss EA, Musher DM. Acute kidney injury associated with trimethoprim/sulfamethoxazole. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67:1271-7
191. Safrin S, Finkelstein DM, Feinberg J, Frame P, Simpson G, Wu A et al. Comparison of three regimens for treatment of mild to moderate *pneumocystis carinii* pneumonia in patients with AIDS. A double-blind, randomized trial of oral trimethoprim-sulfamethoxazole, dapsone-trimethoprim, and clindamycin-primaquine. *Ann Intern Med.* 1996;124:792-802
192. Toma E, Thorne A, Singer J, Rabout J, Lemieux C, Trottier S et al. Clindamycin with primaquine vs. trimethoprim-sulfamethoxazole therapy for mild and moderately severe *pneumocystis carinii* pneumonia in patients with AIDS: a multicenter, double-blind, randomized trial (CTN 004). CTN-PCP Study Group. *Clin Infect Dis.* 1998;27:525-30
193. Goto N, Oka S. *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in kidney transplantation. *Transpl Infect Dis.* 2011;13:551-8

6. Danksagung

Ich danke vor allem meiner Frau Christiane, die mich auf dem Weg zu dieser Arbeit stets ermunterte und unterstützte.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Petra Reinke für die Förderung dieser Studien, wertvolle Diskussionen und die langjährige Zusammenarbeit in der Klinik.

Herrn Prof. Dr. Ralf Schindler danke ich für vielfältige Anregungen in Klinik und Forschung.

Meinen Kolleginnen und Kollegen Dr. Oriol Bestard, Dr. Mariana und Dr. Dirk Schürmann, Prof. Dr. Nina Babel, Dr. Peter Liman, Dr. Gantuja Bold, PD Dr. Mira Choi, Dr. Holger Andree sowie Dr. Julian König, Stephanie Kreutzer, Christin Nasiadko, Dr. Bele Johanna Näther moechte ich fuer die gemeinsame Arbeit herzlich danken.

Den Mitarbeitern des Institutes für Medizinische Immunologie sei hier ebenfalls gedankt, insbesondere Herrn Professor Dr. Hans-Dieter Volk für die langjährige Unterstützung, sowie Frau Kristin Neuhaus, Frau Dr. Nadine Unterwalder und Herrn Dr. Christian Meisel.

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

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.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

.....

Datum

.....

Unterschrift