

Aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik  
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

CSF-1 und IL-34-Untersuchung zur Relevanz hinsichtlich der Transplantatabstoßung  
bei nierentransplantierten Patienten

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der  
Medizin  
der Universitätsmedizin  
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Laura Werner  
aus Viersen

Mannheim, 2023

Tag der Promotion: 03.08.2023

Für meine lieben Eltern und Brüder.

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>I</b>
<b>2</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>III</b>
<b>3</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>V</b>
<b>4</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
4.1	Zielsetzung der Arbeit.....	1
<b>5</b>	<b>Literaturdiskussion</b> .....	<b>3</b>
5.1	Nierentransplantation (NTx) – Allgemeines, aktuelle Diagnostik und Therapie .....	3
5.1.1	Einführung und historischer Hintergrund .....	3
5.1.2	Epidemiologie .....	4
5.1.3	Indikationen und Kontraindikationen.....	4
5.1.4	Kriterien für die Allokation von Nieren .....	7
5.1.5	Verzögerte Transplantatfunktion (Delayed Graft Function) .....	9
5.1.6	Transplantationsimmunologie .....	9
5.1.7	Abstoßungsreaktionen .....	10
5.1.8	Immunsuppression .....	12
5.1.9	Nebenwirkungen der Immunsuppressiva .....	15
5.1.10	Konventionelles Monitoring der Transplantatfunktion .....	15
5.1.11	Nicht-invasive Biomarker für das Monitoring Nierentransplantierter ....	16
5.2	CSF-1 .....	18
5.2.1	Das Zytokin CSF-1 .....	18
5.2.2	Die Struktur von CSF-1 .....	18
5.2.3	CSF-1 Rezeptor.....	19
5.2.4	Signaltransduktion am CSF-1 Rezeptor .....	20
5.2.5	CSF-1 in der Niere .....	21
5.2.6	Die Rolle von CSF-1 bei der akuten Abstoßung .....	21

5.3	IL-34 .....	22
5.3.1	Das Zytokin IL-34 .....	22
5.3.2	Struktur von IL-34.....	22
5.3.3	Bindung von IL-34 an CSF-1R.....	23
5.3.4	Protein-Tyrosin-Phosphatase $\zeta$ (PTP- $\zeta$ ), ein zweiter IL-34 Rezeptor...	23
5.3.5	Syndecan-1.....	23
5.3.6	IL-34 in der Niere.....	24
<b>6</b>	<b>Material und Methoden.....</b>	<b>25</b>
6.1	Material .....	25
6.1.1	Patientenkollektiv .....	25
6.1.2	Materialien zur venösen Blutentnahme .....	25
6.1.3	Laborgeräte .....	26
6.1.4	Verbrauchsmaterial .....	26
6.1.5	Antikörper .....	27
6.1.6	Fertigsätze .....	27
6.1.7	Computer-Programme.....	27
6.2	Methoden .....	28
6.2.1	Venöse Blutentnahme und Weiterverarbeitung .....	28
6.2.2	Sicherung einer Abstoßung .....	28
6.2.3	Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) .....	29
6.2.4	Statistische Auswertung.....	34
<b>7</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>35</b>
7.1	Deskriptive Analyse des Patientenkollektivs.....	35
7.1.1	Geschlechtsverteilung.....	35
7.1.2	Altersverteilung bei Transplantation .....	36
7.1.3	Wartezeit und Transplantationsformen.....	37
7.1.4	Abstoßung .....	37
7.1.5	Komplikationen .....	38

7.1.6	Basisparameter Abstoßung vs. keine Abstoßung .....	39
7.2	Verlauf von CSF-1 und IL-34 in den ersten 3 Monaten nach Transplantation 40	
7.2.1	Anpassung der Messwerte von CSF-1 und IL-34 .....	41
7.2.2	Vergleich IL-34 Verlauf Abstoßung vs. keine Abstoßung .....	42
7.2.3	Vergleich CSF-1 Verlauf Abstoßung vs. keine Abstoßung .....	44
7.2.4	Korrelation zwischen IL-34 und CSF-1 .....	46
7.3	Aufteilung Abstoßung in Subgruppen .....	49
7.3.1	Verlauf IL-34 in Subgruppe „Abstoßung ± 10 Tage“ .....	50
7.3.2	Verlauf CSF-1 in Subgruppe „Abstoßung ± 10 Tage“ .....	51
7.4	Assoziation verschiedener Einflussgrößen mit der Konzentration von IL-34 und CSF-1 .....	52
7.4.1	Geschlecht .....	52
7.4.2	Art der Nierenspende .....	54
7.4.3	HLA-Mismatch .....	55
7.5	Assoziation der Konzentration von IL-34 und CSF-1 mit einem klinischen Ereignis .....	57
7.5.1	Komplikationen .....	57
7.5.2	CMV-Virämie und BK-Virämie .....	57
7.6	Serumkreatinin .....	58
7.6.1	Korrelation von IL-34 und CSF-1 mit dem Serumkreatinin .....	58
7.7	Korrelation von IL-34 und CSF-1 mit Entzündungsparametern .....	59
7.8	Regressionsanalyse .....	60
<b>8</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>61</b>
8.1	Patientenkollektiv .....	61
8.2	CSF-1- und IL-34-Konzentration vor Transplantation .....	61
8.2.1	Vergleich IL-34 Verlauf Abstoßung vs. keine Abstoßung .....	62
8.2.2	Vergleich CSF-1 Verlauf Abstoßung vs. keine Abstoßung .....	64
8.2.3	Korrelation zwischen IL-34 und CSF-1 .....	65

8.3	Assoziation verschiedener Einflussgrößen mit der Konzentration von IL-34 und CSF-1.....	66
8.3.1	Geschlecht und Alter.....	66
8.3.2	Art der Nierenspende.....	67
8.3.3	HLA-Mismatch.....	67
8.4	Assoziation der Konzentration von IL-34 und CSF-1 mit einem klinischen Ereignis.....	68
8.4.1	CMV-Virämie und BK-Virämie.....	68
8.5	Korrelation von IL-34 und CSF-1 mit dem Serumkreatinin.....	68
8.5.1	Korrelation von IL-34 und CSF-1 mit Entzündungsparametern.....	69
8.6	Regressionsanalyse.....	70
8.7	Limitationen dieser Studie.....	71
<b>9</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>72</b>
	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>74</b>
<b>10</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>81</b>
<b>11</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>83</b>
<b>12</b>	<b>Lebenslauf.....</b>	<b>84</b>

## 1 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung(en)
AKI	<i>Acute Kidney Injury</i>
BKV	BK-Virus
°C	Grad Celsius
CKD	Chronic Kidney Disease
CMV	Cytomegalievirus
CSF-1	<i>Colony-stimulating Factor 1</i>
CSF-1R	<i>Colony-stimulating Factor 1 Rezeptor</i>
DSA	Donorspezifische Antikörper
DGF	<i>Delayed Graft Function</i>
EKTAS	<i>Eurotransplant Kidney Allocation Systeme</i>
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
Et al.	<i>et alii</i>
FAK	<i>Focal Adhesion Kinase</i>
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
HLA	<i>Human Leukocyte Antigen</i>
HRP	Meerrettichperoxidase ( <i>horseradish peroxidase</i> )
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
i.v.	intravenös



KDIGO	<i>Kidney Disease Improving Global Outcomes</i>
(N)Tx	Nierentransplantation
M-CSF	Makrophagenkolonien stimulierender Faktor ( <i>macrophage colony-stimulating factor</i> )
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
MMF	Mycofenolat Mofetil
mTOR	<i>Mammalian target of rapamycin</i>
PTP- $\zeta$	Protein-Tyrosin-Phosphatase $\zeta$
RPM	Umdrehungen pro Minute ( <i>revolutions per minute</i> )
RT	Raumtemperatur
TECs	Tubulusepithelzellen
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung ( <i>phosphate buffered saline</i> )

## 2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Lebenserwartung für Patienten unter Dialyse bzw. Transplantation vom Zeitpunkt der Aufnahme auf die Warteliste (1) .....	3
Tabelle 2: Blutgruppenkompatibilität.....	7
Tabelle 3: Blutgruppenkompatibilität bei hochimmunisierten Patienten .....	7
Tabelle 4: Risikofaktoren für die Entwicklung einer akuten Rejektion (26) .....	11
Tabelle 5: Basisimmunsuppression .....	13
Tabelle 6: Spezifische Nebenwirkungen der zugelassenen Immunsuppressiva. Steroide, Cyclosporin A, Tacrolimus, MMF Mycophenolat Mofetil, Sirolimus/Everolimus (modifiziert nach (54)) .....	15
Tabelle 7: Materialien zur venösen Blutentnahme .....	25
Tabelle 8: Laborgeräte .....	26
Tabelle 9: Verbrauchsmaterial .....	26
Tabelle 10: Antikörper .....	27
Tabelle 11: Fertigsätze.....	27
Tabelle 12: Computer-Programme .....	27
Tabelle 13: Zeitpunkte der Blutabnahme.....	28
Tabelle 14: Reagenzien für ELISA.....	32
Tabelle 15: Komplikationen nach Tx.....	38
Tabelle 16: Basisparameter Abstoßung vs. keine Abstoßung (Mittelwert $\pm$ SD), $p^a$ : Mann-Whitney-U, t-Test, Chi-Quadrat-Test, exakter Test nach Fischer .....	39
Tabelle 17: IL-34 und CSF-1 Messungen Gruppe „keine Abstoßung“ .....	40
Tabelle 18: IL-34 und CSF-1 Messungen Gruppe „Abstoßung“ .....	40
Tabelle 19: Deskriptive Statistik relative IL-34 und CSF-1 Konzentrationen.....	41
Tabelle 20: Deskriptive Statistik IL-34 relativ für Friedmann-Test .....	42
Tabelle 21: Ergebnisse des Post-hoc-Tests IL-34 .....	42
Tabelle 22: Deskriptive Statistik CSF-1 relativ für Friedmann-Test.....	44
Tabelle 23: Ergebnisse des Post-hoc-Tests CSF-1 .....	44
Tabelle 24: Mann-Whitney-U-Test CSF-1 .....	45
Tabelle 25: Korrelation nach Spearman-Rho zwischen IL-34 und CSF-1 T <sub>0</sub> .....	46
Tabelle 26: Korrelation nach Spearman-Rho zwischen IL-34 relativ und CSF-1 relativ T <sub>1</sub> .....	47

Tabelle 27: Korrelation nach Spearman-Rho IL-34 relativ und CSF-1 relativ T <sub>2</sub> .....	48
Tabelle 28: Anzahl Messwerte (BU: Blutuntersuchung).....	49
Tabelle 29: deskriptive Statistik relative IL-34 und CSF-1 Konzentration Subgruppe Abstoßung.....	49
Tabelle 30: IL-34 Konzentration bei Männern und Frauen .....	53
Tabelle 31: CSF-1 Konzentration bei Männern und Frauen .....	53
Tabelle 32: Konzentration IL-34 Lebend- und Leichennierenspende.....	54
Tabelle 33: Konzentration CSF-1 Lebend- und Leichennierenspende.....	55
Tabelle 34: Mann-Whitney-U-Test CMV-Virämie .....	57
Tabelle 35: Mann-Whitney-U-Test BK-Virämie .....	57
Tabelle 36: Kreatininkonzentration im Serum (µmol/l) zu verschiedenen Zeitpunkten .....	58
Tabelle 37: Mann-Whitney-U-Test Kreatinin .....	58
Tabelle 38: Korrelation IL-34 in pg/ml und Serumkreatinin.....	58
Tabelle 39: Korrelation CSF-1 in pg/ml und Serumkreatinin.....	58
Tabelle 40: Korrelation IL-34 in pg/ml und CRP.....	59
Tabelle 41: Korrelation IL-34 in pg/ml und Leukozyten.....	59
Tabelle 42: Korrelation CSF-1 in pg/ml und CRP.....	59
Tabelle 43: Korrelation CSF-1 in pg/ml und Leukozyten.....	59
Tabelle 44: Datenerhebung Organempfänger.....	81
Tabelle 45: Datenerhebung Organspender .....	82

### 3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Patienten- und Transplantatüberlebensrate nach Nierentransplantation 1997-2005 .....	6
Abbildung 2: Schematische Darstellung Vorläufer-mRNA von CSF-1 .....	19
Abbildung 3: CSF-1 Signaltransduktion.....	20
Abbildung 4: Schematische Darstellung eines direkten und indirekten ELISAs .....	30
Abbildung 5: Schematische Darstellung eines kompetitiven und Sandwich ELISAs.	31
Abbildung 6: Geschlechtsverteilung im Patientenkollektiv .....	35
Abbildung 7: (A) Alterspyramide, (B) Altersverteilung Empfänger (Mittelwert mit Range), (C) Altersverteilung Spender (Mittelwert mit Range) .....	36
Abbildung 8:Wartezeit nach Transplantationsmodus.....	37
Abbildung 9: relative IL-34 Konzentration zum Zeitpunkt T <sub>0</sub> , T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> unterteilt in Abstoßung nein/ja dargestellt als Boxplot mit Median, 25. und 25. Perzentile .....	43
Abbildung 10: relative CSF-1 Konzentration zum Zeitpunkt T <sub>0</sub> , T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> unterteilt in Abstoßung nein/ja dargestellt als Boxplot mit Median, 25. und 25. Perzentile .....	45
Abbildung 11: Streudiagramm zur Korrelation nach Spearman-Rho T <sub>0</sub> IL-34/T <sub>0</sub> CSF-1 in pg/ml .....	46
Abbildung 12: Streudiagramm zur Korrelation nach Spearman-Rho T <sub>1</sub> IL-34 relativ/T <sub>1</sub> CSF-1 relativ.....	47
Abbildung 13: Streudiagramm zur Korrelation nach Spearman-Rho T <sub>2</sub> IL-34 relativ/T <sub>2</sub> CSF-1 relativ.....	48
Abbildung 14: relative IL-34 Konzentration zum Zeitpunkt T <sub>0</sub> , T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> Gruppe „Abstoßung ± 10d“ dargestellt als Boxplot mit Median, 25. und 25. Perzentile.....	50
Abbildung 15: relative CSF-1 Konzentration zum Zeitpunkt T <sub>0</sub> , T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> Gruppe „Abstoßung ± 10d“ dargestellt als Boxplot mit Median, 25. und 25. Perzentile.....	51
Abbildung 16: Anteil Männer und Frauen .....	52
Abbildung 17: Anteil der Lebend- und Leichennierenspenden .....	54
Abbildung 18: Anzahl HLA-A Mismatches.....	55
Abbildung 19: Anzahl HLA-B Mismatches.....	56
Abbildung 20: Anzahl HLA-DR Mismatches.....	56

## **4 Einleitung**

Die Nierentransplantation stellt die Therapie der Wahl von Patienten mit dialysepflichtiger terminaler Niereninsuffizienz dar. Nach der Transplantation ist es ein wichtiges Ziel, akute Komplikationen, wie z.B. Transplantatabstoßungen, frühzeitig zu identifizieren und adäquat zu behandeln, um damit anhaltend eine stabile Funktion der Niere zu sichern. Immunsupprimierende Medikamente sollen dabei möglichst eine Abwehrreaktion des Empfängers gegen das neue Organ verhindern. Nebenwirkungen dieser Immunsuppressiva, wie u.a. eine erhöhte Infektionsneigung, die Induktion von Malignomen und Nephrotoxizität, machen eine patientenspezifische Adjustierung der Dosierung der Immunsuppressiva nötig. Als Parameter einer sich verschlechternden Nierenfunktion werden derzeit ein erhöhtes Serumkreatinin und eine neu aufgetretene oder fortschreitende Proteinurie herangezogen. Diese wird histologisch durch eine invasive Nierenbiopsie bestätigt. Studien zeigten, dass die Zytokine Colony-stimulating Factor 1 (CSF-1) und Interleukin-34 (IL-34) eine wichtige Rolle bei der Schädigung der Niere spielen könnten. Während einer Nierenschädigung durch Ischämie-Reperfusion fördern CSF-1 und IL-34 die Makrophagenproliferation und -akkumulation in der Niere. Im Zusammenhang mit Transplantationen existieren zurzeit nur wenige Arbeiten. Inwieweit die Zytokine CSF-1 und IL-34 für eine Transplantatschädigung durch Abstoßungsreaktionen von Bedeutung sind, ist bisher noch nicht eindeutig geklärt. Bis dato fehlen in der medizinischen Fachliteratur Studien zur potenziellen Rolle von CSF-1 und IL-34 als Biomarker, welche Komplikationen, wie z.B. die akuten Abstoßungen, frühzeitig detektieren und eine gute, nicht-invasive Ergänzung für das posttransplantationäre Monitoring darstellen könnten.

### **4.1 Zielsetzung der Arbeit**

Das Ziel dieser prospektiven Kohortenstudie war es, zu untersuchen, ob und inwieweit die im Plasma gemessenen Konzentrationen für die Zytokine CSF-1 und IL-34 als relevante und zuverlässige Biomarker zur Überwachung einer Immunaktivierung nach einer Nierentransplantation dienen. Im Rahmen dessen wurde untersucht, ob ein Zusammenhang besteht zwischen der Konzentration der Biomarker bzw. deren Verlauf in der frühen Posttransplantationsphase und dem klinischen Ereignis einer Organabstoßung. Zudem wurde untersucht, ob eine frühzeitige Messung der Biomarker dafür geeignet ist, dieses Ereignis vorherzusagen. Ferner untersuchten wir,

inwieweit Einflussgrößen wie Geschlecht, Art der Organspende und HLA-Mismatch die Zytokinkonzentration beeinflussen.

*Ausschließlich zum Zweck der besseren Lesbarkeit wird auf die geschlechtsspezifische Schreibweise verzichtet. Alle personenbezogenen Bezeichnungen in dieser Dissertation sind selbstverständlich geschlechtsneutral zu verstehen.*

## 5 Literaturdiskussion

### 5.1 Nierentransplantation (NTx) – Allgemeines, aktuelle Diagnostik und Therapie

#### 5.1.1 Einführung und historischer Hintergrund

Die Nierentransplantation ist heutzutage ein etabliertes Verfahren zur Behandlung der terminalen Nierenerkrankung (Chronic Kidney Disease = CKD). Damit stellt sie eine Ergänzung und Alternative zu anderen Nierenersatztherapien (z.B. Hämo- bzw. Peritonealdialyse) dar. Im Vergleich zur Dialyse kann die Nierentransplantation zur Steigerung der Lebensqualität beitragen und die körperliche Leistungsfähigkeit verbessern. Eine erfolgreiche Transplantation kann, verglichen mit der Dialyse, die Lebenserwartung verdreifachen (1, 2). In Tabelle 1 ist die Lebenserwartung für Patienten unter Dialyse bzw. nach Transplantation dargestellt.

*Tabelle 1: Lebenserwartung für Patienten unter Dialyse bzw. Transplantation vom Zeitpunkt der Aufnahme auf die Warteliste (1)*

<b>Patienten</b>	<b>Lebenserwartung bei Dialyse (Jahre)</b>	<b>Lebenserwartung nach Transplantation (Jahre)</b>
Frauen	5,63	16,13
Männer	5,84	17,19
In Abhängigkeit vom Alter (Jahre)		
18-34	27,22	41,50
35-49	6,71	18,03
50-59	5,12	11,18
60-64	4,32	7,84
> 65	3,69	7,60

Die erste erfolgreiche Nierentransplantation wurde im Jahr 1954 von dem Chirurgen Joseph Murray an monozygoten Zwillingen in Boston durchgeführt. 1990 bekam er den Nobelpreis für Medizin, nachdem ihm 1962 die erste erfolgreiche Nierentransplantation unter Verwendung des Immunsuppressivums Azathioprin bei nicht genetisch verwandten Personen glückte (3). In Deutschland fand die erste Nierentransplantation im November 1963 durch Wilhelm Brosig und Reinhold Nagel in Berlin statt.

Im Sommer 1924 hat der Internist Georg Haas als erster Arzt eine extrakorporale Dialyse am Menschen durchgeführt (4). Dadurch wurde die Voraussetzung geschaffen, terminal niereninsuffizienten Patienten, welche auf eine Transplantation

warteten, das Überleben zu ermöglichen. In Deutschland wurden im Jahr 2018 ca. 92.000 Patienten dialysiert (5).

Das Wissen über Leukozytenantigene, erstmals beschrieben von Jean Dausset im Jahr 1957, brachte längerfristigen Erfolg bei der allogenen Transplantation (6). Das wachsende Verständnis über immunologische Grundlagen, immunsuppressive Therapie sowie die Weiterentwicklung der peri- und postoperativen Therapie – einschließlich chirurgischer Techniken – ermöglichen mittlerweile ein Transplantatüberleben von mehreren Jahrzehnten.

### **5.1.2 Epidemiologie**

Die Niere ist das am häufigsten transplantierte Organ. Im Jahr 2019 wurden in Deutschland 2.132 Nieren transplantiert. Das waren 56,6 % aller transplantierten Organe. Davon waren 520 (24,4 %) Lebendspenden und 1.612 Leichenspenden (75,6 %). Die durchschnittliche Wartezeit auf ein Spenderorgan liegt bei ca. 6 bis 7 Jahren mit deutlich zunehmender Tendenz. Im Jahr 2019 waren 7.148 Patienten auf der Warteliste für eine Nierentransplantation gelistet (7). Während die Kosten pro Patient und abhängig von der Dialyseart ca. 40.000 € im Jahr betragen, ist die Transplantation mit rund 18.000 € die kostengünstigere Alternative (8).

### **5.1.3 Indikationen und Kontraindikationen**

Die Nierentransplantation ist das Verfahren der Wahl bei terminaler CKD und bestehender Dialysepflichtigkeit. Ein längeres Transplantatüberleben ist mit einer kurzen Dialysezeit bzw. mit einer Transplantation noch vor Beginn der Dialysepflichtigkeit verbunden (9, 10). Die Dauer der Dialysebehandlung korreliert sowohl mit einer Verschlechterung der Lebenserwartung als auch mit einer Verschlechterung der Transplantatfunktion (9).



Die häufigsten Ursachen der Niereninsuffizienz sind in abnehmender Reihenfolge (10):

- Diabetes mellitus Typ II: 31 %
- Vaskuläre Nephropathie: 22 %
- Glomerulonephritis: 12 %
- Unbekannte Genese: 9 %
- Interstitielle Nephritis: 8 %
- Zystenniere: 5 %
- Systemerkrankungen: 4 %

Zu den absoluten Kontraindikationen einer Leichennierentransplantation zählen u.a. ein metastasierendes Malignom, eine aktive systemische Infektion (z.B. HIV-Infektion oder Tuberkulose) sowie eine schwere chronische Erkrankung mit einer Lebenserwartung von weniger als einem Jahr. Darüber hinaus beinhalten die relativen Kontraindikationen u.a. eine fortgeschrittene Arteriosklerose sowie fehlende Compliance (10, 11).

Neben der Leichennierenspende gibt es auch die Möglichkeit zur Lebendnierenspende. Für eine Lebendnierenspende gilt es, mehrere medizinische sowie juristische Bedingungen zu erfüllen. So muss eine verwandtschaftliche oder enge emotionale Bindung zwischen Spender und Empfänger vorliegen. Selbst bei fehlender HLA-Kompatibilität ist die Patienten- und Transplantatüberlebensrate, im Vergleich zur Leichennierentransplantation, signifikant besser. Dies ist auf eine kürzere kalte Ischämiezeit, planbare Operationsumstände und eine bessere postoperative Compliance zurückzuführen (9). Zudem ist die Qualität des Spenderorgans oftmals eine bessere, da es sich bei Lebendspendern meist um gesunde Personen handelt, während es bei Leichenspendern im Verlauf des Lebens schon zu diversen Nierenschädigungen gekommen sein kann. In Abbildung 1 ist die Patienten- und Transplantatüberlebensrate dargestellt, bezogen auf eine Leichen- bzw. Lebendspende.

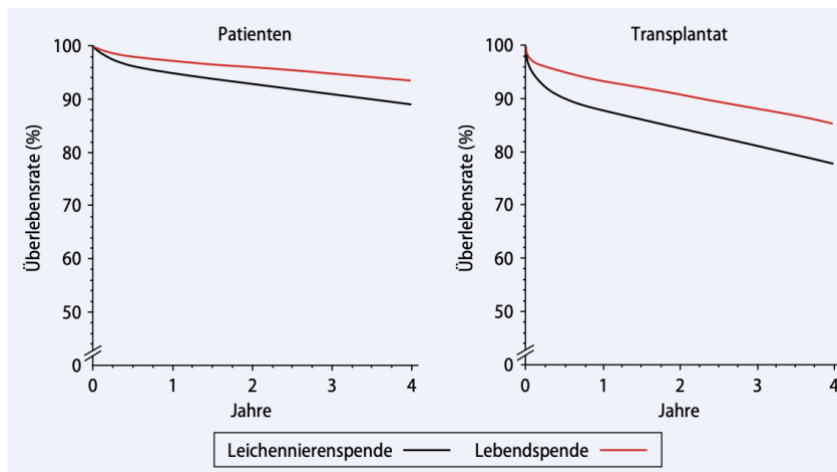


Abbildung 1: Patienten- und Transplantatüberlebensrate nach Nierentransplantation 1997-2005 (Quelle: Kunzendorf et al. "Chronische Niereninsuffizienz und Transplantation" 2007, Mod. n. CTS, Collaborative Transplant Study Heidelberg)

Absolute Kontraindikationen für eine Lebendspende sind ein oder mehrere der nachfolgend beschriebenen Kriterien beim Spender (10):

- Alter < 18 Jahre
- Proteinurie (> 300mg/24h) und/oder Hämaturie
- Niereninsuffizienz
- HIV-Infektion
- Aktives Neoplasma
- Chronische Erkrankung, v.a. COPD oder schwere Herzinsuffizienz
- Schwere psychische Erkrankung
- Abhängigkeit/Sucht (Medikamente, Drogen, Alkohol)
- Schwangerschaft
- Schwer einstellbarer arterieller Hypertonus

## 5.1.4 Kriterien für die Allokation von Nieren

Es liegt ein multifaktorielles Allokationsmodell zur Verteilung von postmortalen Transplantaten vor. Eurotransplant teilt die Spenderorgane innerhalb Belgiens, der Niederlande, Luxemburgs, Deutschlands, Österreichs, Sloweniens und Kroatiens zu. Mittels des Punktesystems EKTAS (Eurotransplant Kidney Allocation System) vergibt Eurotransplant die Organe. Der Empfänger mit der höchsten Punktzahl im Allokationsprozess erhält das Organ. Folgende Kriterien fließen mit in die Punktzahl ein:

- **Blutgruppenkompatibilität (A-B-0-System):** Die Blutgruppenkompatibilität zwischen Spender und Empfänger ist Voraussetzung für die Organtransplantation. Für hochimmunisierte Patienten gelten gesonderte Blutgruppenregeln. Ausnahme bildet die Nierenlebendspende, bei der auch die AB0-inkompatible Transplantation möglich ist, indem vor der Transplantation durch die Gabe von Rituximab und Immunglobulinen sowie die Durchführung von Immunadsorptionen eine Immuntoleranz des Empfängers induziert wird (11, 12).

*Tabelle 2: Blutgruppenkompatibilität*

<b>Blutgruppe Spender</b>	<b>Blutgruppe Empfänger</b>
0	0
A	A
B	B
AB	AB

*Tabelle 3: Blutgruppenkompatibilität bei hochimmunisierten Patienten*

<b>Blutgruppe Spender</b>	<b>Blutgruppe Empfänger</b>
0	0, A, B, AB
A	A, AB
B	B, AB
AB	AB

- **Grad der Übereinstimmung der HLA-Merkmale:** Eine weitgehende Übereinstimmung der HLA-Merkmale korreliert mit dem langfristigen Transplantationserfolg (13). In einer Punktzahl wird die Anzahl der „Mismatches“ (Nicht-Übereinstimmungen) der Antigene des HLA-A-, HLA-B- und HLA-DR-Locus bzw. die Anzahl der übereinstimmenden Antigene ausgedrückt.
- **Mismatch-Wahrscheinlichkeit:** Die Mismatch-Wahrscheinlichkeit bezeichnet die Wahrscheinlichkeit, ein in den HLA-Merkmalen weitgehend übereinstimmendes Organ angeboten zu bekommen.
- **Wartezeit:** Der erste Tag der Nierenersatztherapie definiert den Beginn der Wartezeit. Damit stellt die Wartezeit einen Dringlichkeitsfaktor dar, da die Dauer der Dialyse mit einer Lebensverkürzung assoziiert ist.
- **Ischämiezeit:** Entscheidend für einen langfristigen Transplantationserfolg ist eine unmittelbare und angemessene Funktionsaufnahme des Transplantats. Es wird eine möglichst kurze Ischämiezeit angestrebt.
- **Hochimmunisierte Patienten:** Innerhalb des Acceptable Mismatch-Programms (AM-Programm) werden hochimmunisierte Patienten bevorzugt berücksichtigt. Dabei werden nur die Vorsensibilisierung und die Blutgruppenkompatibilität, nicht jedoch die Übereinstimmung der HLA-Merkmale berücksichtigt. Diese Patienten erhalten vor allen anderen Patienten ein Organangebot, da sie sonst viel schlechtere Chancen auf die Zuteilung eines Transplantantes hätten.
- **Hohe Dringlichkeit (High Urgency – HU):** Liegt eine lebensbedrohliche Situation vor, ist in Einzelfällen eine vorrangige Organzuteilung gerechtfertigt. Das Ziel ist dabei, innerhalb von 6 Wochen zu transplantieren (12, 14).

Darüber hinaus gibt es speziell für ältere Patienten das Eurotransplant Senior Programm (ESP). Über eine Warteliste werden Organe von Spendern, welche älter als 65 Jahre sind, an Empfänger vermittelt, welche ebenfalls älter als 65 Jahre sind. Dadurch soll die Wartezeit, und damit die Zeit an der Dialyse, für ältere Patienten verkürzt werden. Voraussetzung ist neben einer Kompatibilität der Blutgruppen von Empfänger und Spender auch das Vorhandensein von weniger als 5% panelreaktiver Antikörper (10).

### **5.1.5 Verzögerte Transplantatfunktion (Delayed Graft Function)**

Der Begriff „Delayed Graft Function“ (DGF) beschreibt die Manifestation eines akuten Nierenversagens (Acute Kidney Injury – AKI) und wird in der Regel verwendet, um die Notwendigkeit einer Dialyse nach Erhalt einer Nierentransplantation zu beschreiben. Die verzögerte Transplantatfunktion ist die häufigste unmittelbare postoperative Komplikation bei Alлотransplantationen (15). Während es für Eigennieren mit dem Anstieg des Serumkreatinins innerhalb von 48 Stunden nach dem auslösenden Ereignis eine Definition für diesen Begriff gibt, fehlt diese genaue Definition bei transplantierten Nieren. In der Literatur werden mehr als 18 Definitionen für DGF beschrieben, abhängig u.a. vom Transplantationszentrum, der Region sowie dem Land (16). Ein Großteil der zwischen 1984 und 2007 überprüften Studien definierte DGF als Dialyse innerhalb von 7 Tagen nach Transplantation (17). Definitionen anderer Studien schließen den fehlenden Abfall des Serumkreatinins, die Urinproduktion oder eine Kombination aus allem ein (18). Mit einer Häufigkeit von 4 bis 10 % kommt es bei Empfängern einer Lebendnierenspende zu einer DGF (19), während es bei Empfängern von Leichennierenspenden 5 bis 50 % sind. DGF steigert nicht nur die Morbidität, sondern verlängert auch den Krankenhausaufenthalt nach einer Transplantation und kann zu vorzeitigem Transplantatversagen führen (17).

### **5.1.6 Transplantationsimmunologie**

Die Abstoßungsreaktionen stellen eine große Herausforderung bei der Transplantation von Organen genetisch nicht identischer Spender und Empfänger dar. Sie verschlechtern die Langzeitprognose für das Transplantat und den Patienten (20). Zu den immunologischen Faktoren, welche eine Rejektion begünstigen, gehören zum einen die Blutgruppenantigene und zum anderen die Antigene des Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC-Antigene), die beim Menschen auch als HLA-System (Human Leucocyte Antigen) bezeichnet werden (21). Die HLA-Antigene

liegen auf dem kurzen Arm von Chromosom 6 und schließen die Genorte A, B, C (Klasse I) und DR, DP, DQ (Klasse II) ein. Für jeden dieser Genorte sind zahlreiche Allele bekannt, wodurch sich ein ausgeprägter Polymorphismus ergibt und eine zufällige HLA-Übereinstimmung zwischen nichtverwandten Individuen sehr selten ist (22). Fremde MHC-Antigene führen zu einer T-Zell-vermittelten Immunantwort. Eine Transplantation ohne Berücksichtigung der HLA-Antigene führt damit zu einer starken Immunreaktion und infolgedessen zur Organabstoßung (21). Daher strebt man eine möglichst gute HLA-Kompatibilität zwischen Spender und Empfänger an (HLA-Matching). Besonderer Fokus liegt dabei auf den HLA-Klassen A, B und DR (23). Je weniger HLA-Mismatches vorliegen, desto höher ist die Transplantatüberlebensrate (24).

### 5.1.7 Abstoßungsreaktionen

Abhängig vom zeitlichen Auftreten nach der Transplantation kann zwischen einer *hyperakuten*, einer *akuten* und einer *chronischen Rejektion* unterschieden werden.

Bei der *hyperakuten Rejektion* handelt es sich um eine humorale Abstoßung durch Aktivierung des Komplement- oder Gerinnungssystems, die bei ABO-Inkompatibilität oder positivem T-Zell-Cross-Match auftritt. Schon vor der Transplantation existieren Antikörper gegen Antigene des Transplantats, z.B. durch Bluttransfusionen, vorausgegangene Transplantationen oder Schwangerschaft. Innerhalb von Minuten bis Stunden nach Gefäßanastomosierung kommt es zu Mikroembolisationen von Gefäßen und infolgedessen zur Ischämie und Nekrose des Transplantates. Dadurch kommt es zu einem irreversiblen Transplantatverlust. Die *hyperakute Rejektion* ist heute sehr selten geworden, da präoperativ zwingend eine Blutgruppenbestimmung und ein Lymphozyten-Crossmatch durchgeführt werden (25).

Kommt es innerhalb der ersten Tage und Wochen nach Transplantation zu einer immunologischen Reaktion des Empfängers, nennt man das *akute Rejektion*. Sie stellt die häufigste Form der Abstoßungsreaktionen dar. Die Transplantatfunktion fällt ab und es kommt zu einem Rückgang der Diurese und einem Anstieg der Retentionsparameter (25). Unspezifische Symptome sind Schmerzen über dem Transplantat, Schwellung des Organs sowie die Verschlechterung des Allgemeinzustandes. Die Diagnose erfolgt anhand der Klinik und wird mittels Biopsie gesichert. Man kann zwischen Antikörper-vermittelter Rejektion und T-Zell-vermittelter Rejektion unterscheiden, eingeteilt durch die Banff-Klassifikation, welche auch die

typischen histologischen Veränderungen einschließt (26, 27). Beispielsweise zeigt eine Antikörper-vermittelte Rejektion typische pathologische Gefäßveränderungen, donorspezifische Antikörper (DSA) und C4d-Ablagerungen, während sich die T-Zell-vermittelte Rejektion durch eine T-Zell-Infiltration des Tubulusepithels und der Gefäßwand kennzeichnet (28). Frühe akute (erste drei Monate) und späte akute Rejektionen (dritter bis zwölfter Monat) können zu einem verkürzten Transplantatüberleben und einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für eine chronische Transplantatdysfunktion führen (29, 30).

Tabelle 4: Risikofaktoren für die Entwicklung einer akuten Rejektion (26)

Hohes Risiko	Niedriges Risiko
Immunisierung (hoher Prozentsatz Panel-reaktiver Antikörper) <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vorherige Transplantation</li> <li>• Schwangerschaft</li> <li>• Transfusion</li> </ul>	Kein HLA-Mismatch
Verzögerte Funktionsaufnahme „delayed graft function“ <ul style="list-style-type: none"> <li>• Leichenniere</li> <li>• Höheres Donoralter</li> <li>• Lange kalte Ischämiezeit</li> <li>• Hirntod des Spenders</li> <li>• Akutes Nierenversagen beim Spender</li> </ul>	Älterer Empfänger einer jungen Spenderniere
HLA-Mismatch	Präemptive Transplantation
Positives B-Zell-Crossmatch vor der Transplantation	Lebendspende
ABO-Inkompatibilität	Erste Transplantation
Steroidminimierung	
Infektionen <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bakterielle Pyelonephritis</li> <li>• CMV</li> </ul>	
Jugendlicher Empfänger	
Afroamerikanische Rasse	
Vorherige Rejektionen	

Die *chronische Rejektion* ist durch einen zunehmenden Verlust der Transplantatfunktion gekennzeichnet und entwickelt sich über Monate bis Jahre. Es kommt zur mäßigen Proteinurie und Hypertonie. Sie kann durch immunologische und nicht-immunologische Prozesse entstehen (z.B. Ciclosporintoxizität).

Vorausgegangene akute Rejektionen begünstigen das Auftreten der chronischen Rejektion (21).

### 5.1.8 Immunsuppression

Die Immunsuppression soll primär die Vermeidung des immunologischen Transplantatverlustes bewirken. Dabei ist eine phasengerechte Adaptation nötig, um die mit Immunsuppressiva verbundenen Nebenwirkungen zu verringern und gleichzeitig das Transplantatüberleben zu sichern. Man kann zwischen Induktionstherapie, Erhaltungs- und Abstoßungstherapie unterscheiden.

Die *Induktionstherapie* erfolgt prä- und peritransplantationell und hat das Ziel, von vornherein das Risiko einer Abstoßung zu verringern. Zu unterscheiden sind depletierende Agenzien von nicht depletierenden Agenzien. Zu den depletierenden Agenzien zählt das Antithymozytenglobulin (ATG). Die Hauptnebenwirkung ist die erhöhte Infektionsgefahr. Das nicht depletierende Agens der Wahl ist der Interleukin (IL)-2-Inhibitor Basiliximab, welcher geringere Nebenwirkungen als die depletierenden Agenzien aufweist. Daher ist Basiliximab das Medikament der Wahl in der Niedrigrisikogruppe (31). In der Hochrisikogruppe schneidet ATG jedoch signifikant besser ab als Basiliximab, indem es die Inzidenz der akuten Rejektion senkt (32, 33). Die KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes) teilt Transplantatempfänger in eine Hoch- und eine Niedrigrisikogruppe ein, abhängig von ihrem immunologischen Risiko einer Abstoßung.

Es stehen unterschiedliche Arzneimittel mit verschiedenen Wirkungsmechanismen für die *Erhaltungstherapie* zur Verfügung (Tabelle 5). In Deutschland wird nach Nierentransplantation initial eine Kombinationstherapie in Form einer Dreifachtherapie durchgeführt. Dadurch können individuelle Nebenwirkungen minimiert und die Haupteffekte gesteigert werden. Sie besteht aus einem Glukokortikoid, einem Calcineurin-Inhibitor (Cyclosporin oder Tacrolimus) und Mycophenolat-Mofetil (MMF) (33). Randomisierte kontrollierte Studien haben gezeigt, dass Tacrolimus wirksamer als Cyclosporin ist, um die Transplantatfunktion und das Transplantatüberleben zu verbessern und die Abstoßungsrate zu senken (34-36). Als Ergänzung zeigt MMF ein günstiges Nebenwirkungsprofil. Im Vergleich zu Azathioprin, welches in der Vergangenheit Teil der Dreifachtherapie war, fehlt u.a. die Nephrotoxizität, Neurotoxizität und Myelotoxizität (37). Die Kombination von Calcineurin-Inhibitoren mit MMF ermöglicht die Einsparung von Calcineurin-Inhibitoren und damit einhergehend



eine Verminderung der Calcineurin-Inhibitor-verbundenen nephrotoxischen Nebeneffekte (38). Die Inzidenz einer akuten Rejektion ist bei Kombination von MMF mit Tacrolimus geringer als bei Kombination von Azathioprin mit Tacrolimus (39). Bei einigen Patienten findet auch eine Kombinationstherapie Anwendung, bestehend aus einem Calcineurin-Inhibitor und einem mTOR-Inhibitor (Sirolimus, Everolimus) oder aus der Kombination von mTOR-Inhibitor mit MMF (40). Die Kombination von Everolimus und Calcineurin-Inhibitoren in niedriger Dosierung bietet einen potenziellen Vorteil bei Patienten, welche ein hohes Risiko für Leukopenie, gastrointestinale Komplikationen oder CMV- bzw. BKV-Infektionen haben (41). Die Umstellung einer Kombinationstherapie mit Calcineurin-Inhibitoren auf eine Kombinationstherapie mit Everolimus 4,5 Monate nach der Transplantation zeigte eine signifikante Verbesserung der Nierenfunktion (42).

*Tabelle 5: Basisimmunsuppression*

<b>Substanzgruppe</b>	<b>Wirkstoff (Handelsname)</b>
Glukokortikoide	Prednison (Decortin H®) Methylprednisolon (Urbason ®)
Calcineurininhibitoren	Ciclosporin A (Sandimmun ®) Tacrolimus (Prograf®, Advagraf®, Envarsus®)
Antimetaboliten	Mycophenolatmofetil (CellCept ®) Mycophenolat-Natrium (Myfortic ®)
Proliferationshemmer (mTOR-Inhibitoren)	Sirolimus (Rapamune ®) Everolimus (Certican ®)
Antikörper	OKT3 (Orthoclone ®) Polyklonale Antilymphozytenantikörper Antithymozytenglobulin (ATG) Daclizumab (Zenepax ®) Basiliximab (Simulect ®) Belatacept

Nach der initialen Phase folgt die Umstellung auf die langfristige Erhaltungstherapie, welche in der Regel die gleichen Substanzklassen umfasst, allerdings in reduzierter Dosierung und geringeren Zieltalspiegeln. Dadurch können die toxischen Wirkungen einiger Medikamente reduziert werden und zeitgleich eine Abstoßung verhindert werden. Steroide werden nach 6 Monaten auf eine Erhaltungsdosis von 5 mg/Tag

reduziert, wodurch Medikamentennebenwirkungen besser kontrolliert werden können (zu Nebenwirkungen siehe Tabelle 6) (43). Die ELITE-Studie zeigte, dass niedrig dosiertes Tacrolimus (Talspiegel zunächst 7ng/ml, nach 24 Wochen 6,5 ng/ml) in Bezug auf die Nierenfunktion und das Auftreten von Abstoßungen die beste Wirkung hat. Sie stellt damit aktuell den Goldstandard dar (33, 36). Bei Patienten mit niedrigem immunologischem Risiko kann es sinnvoll sein, den Calcineurininhibitor (Ciclosporin A, Tacrolimus) auf einen mTOR-Inhibitor (Everolimus, Sirolimus) umzustellen (44, 45). Dadurch können die durch Calcineurininhibitoren induzierten Nebenwirkungen, einschließlich Nephrotoxizität und chronische Transplantatdysfunktion, verringert werden (46-48).

Im Jahr 2011 wurde mit Belatacept ein Immunsuppressivum zugelassen, welches eine neue Wirkungsweise aufweist. Belatacept stellt eine weitere Alternative zu den Calcineurininhibitoren dar. Im Vergleich zu Ciclosporin A zeigte sich unter Belatacept sowohl nach einem Jahr als auch nach drei Jahren eine bessere Nierenfunktion sowie ein geringeres Auftreten von donorspezifischen Antikörpern (DSA). Außerdem konnte ein positiver Einfluss auf den Blutdruck sowie das Lipidprofil gezeigt werden (49, 50).

Eine *akute Abstoßungsreaktion* macht eine Intensivierung der Immunsuppression nötig. Therapie der Wahl bei T-Zell-vermittelter Rejektion ist die hochdosierte Steroidstoßtherapie, z.B. mit 3-5 mg/kg KG Methylprednisolon i.v. über 3 bis 5 Tage, je nach Schwere der Abstoßung häufig in Kombination mit ATG (10). Für die Therapie der antikörpervermittelten Rejektion liegt keine eindeutige Datenlage vor. Therapie der Wahl ist zurzeit eine Kombination aus Steroidstoßtherapie, Plasmapherese und Immunglobulingabe (52, 53).

### 5.1.9 Nebenwirkungen der Immunsuppressiva

Zu den allgemeinen Arzneimittelnebenwirkungen der Immunsuppression gehören neben einer erhöhten Infektionsneigung (u.a. Cytomegalievirus, Ebstein-Barrvirus, Parvovirus B19, BK-Polyomavirus) und der Induktion von Tumoren auch nicht-immunologische Nebenwirkungen, wie in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Spezifische Nebenwirkungen der zugelassenen Immunsuppressiva. Steroide, Cyclosporin A, Tacrolimus, MMF Mycophenolat Mofetil, Sirolimus/Everolimus (modifiziert nach (54))

	Steroide	Cyclosporin A	Tacrolimus	MMF	Sirolimus
Nephrotoxizität	-	+++	+++	-	-
Neurotoxizität	+	++	+++	-	-
Art. Hypertonie	+++	+++	+++	-	-
Hyperlipidämie	++	++	+	-	+++
Diabetes mellitus	++	+	+++	-	-
Hepatotoxizität	+	+	+	-	+
Gingivahyperplasie	-	++	-	-	-
Diarrhoe	-	+	+	+++	+
Leukopenie	-	-	-	+++	+
Thrombopenie	-	-	-	+	++

### 5.1.10 Konventionelles Monitoring der Transplantatfunktion

Die Transplantatfunktion wird über das Serum-Kreatinin, die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) und eine Proteinurie kontrolliert. Mittels des Kreatininwertes kann die GFR berechnet werden. Allerdings muss Kreatinin als Biomarker differenziert betrachtet werden. Kreatinin wird von der Niere nicht nur frei filtriert, sondern auch aktiv sekretiert. Als Muskelabbauprodukt haben Muskelauf- und -abbau sowie die Ernährung Einfluss auf das Serum-Kreatinin (55, 56). Hinzu kommt, dass das Serum-Kreatinin und die GFR erst verzögert auf eine Organdysfunktion hinweisen (57). Die KDIGO empfiehlt zudem regelmäßige Spiegelkontrollen der Immunsuppressiva und sonografische Kontrollen der Nieren (33).

Goldstandard in der Diagnostik des Transplantatversagens ist die Nierenbiopsie. Sie schließt sich an bei Anstieg des Serum-Kreatinins  $\geq 0,3$  mg/dl innerhalb von 48 h, Anstieg des Serum-Kreatinins auf  $\geq$  das 1,5-fache des Ausgangswertes oder Verminderung der Urin-Ausscheidung um  $<0,5$  ml/kg KG über mehr als 6 Stunden (33).

Allerdings ist hier immer zu differenzieren, ob nicht auch andere Ursachen zur Nierenfunktionsverschlechterung geführt haben könnten wie Exsikkose, Überdosierung von Calcineurininhibitoren mit hohen Spiegeln etc. Auch muss der zeitliche Verlauf berücksichtigt werden (schleichend versus plötzlich). Die Nierenbiopsie ist ein invasiver Eingriff und ist in seltenen Fällen mit Komplikationen wie z.B. Bildung eines perirenenalen Hämatoms, Ausbildung einer arteriovenösen Fistel, Hämaturie und Schädigungen bis hin zum Verlust des Transplantates verbunden (10, 58).

### **5.1.11 Nicht-invasive Biomarker für das Monitoring Nierentransplantierte**

Das konventionelle Monitoring der Transplantatfunktion mittels Bestimmung des Serum-Kreatinins, GFR und Biopsie, unterliegt den oben genannten Risiken. Für die Diagnostik und das Monitoring Nierentransplantierte erfordert das die Entwicklung von nicht-invasiven Biomarkern. Diese sollten proportional zum Schweregrad und in zeitlicher Korrelation zur Rejektion ansteigen sowie ggf. einen prädiktiven Wert haben. Sie sollten eine hohe Sensitivität und Spezifität für die Transplantatschädigung haben. Biomarker sollten schnell, wenig invasiv und reproduzierbar messbar sein, um als Indikator für eine Rejektion zu dienen (59). Dies würde die zügige Diagnostik einer drohenden Rejektion ermöglichen und damit einhergehend die rasche Anpassung der immunsuppressiven Therapie.

Die Definition des Amerikanischen Institute of Health beschreibt Biomarker als Merkmale, die objektiv erfasst und bewertet werden können. Sie sind zum einen Indikatoren für normale oder pathogene biologische Prozesse und zum anderen Indikatoren für pharmakologische Effekte auf therapeutische Interventionen (60).

Als diagnostisches Mittel sind v.a. „Screening Marker“, welche eine frühe Erkrankung erkennen, „Prognostic Marker“, die etwas über den Verlauf einer Erkrankung sagen, „Prediction Marker“, die die Antwort auf ein Medikament vorhersagen und „Monitoring Marker“, welche die Effektivität einer medikamentösen Intervention anzeigen, relevant. In der Transplantationsmedizin spielen die „Biomarkers of rejection“, welche eine Rejektion vorhersagen sollen, sowie die „Biomarkers of tolerance“, welche für die immunsuppressive Medikation wichtig sind, eine Rolle (61).

Die Dosierung der immunsuppressiven Therapie wird auf Grundlage der Zeit nach der Transplantation angepasst oder, bei Nachweis einer Transplantatfunktionsstörung, bei histologisch gesicherten Hinweisen einer Schädigung des Transplantats oder einer Infektion geändert. Dabei wird die Abstoßung häufig erst erkannt, nachdem es zu signifikanten Schädigungen des Transplantats gekommen ist. Biomarker können helfen, die Transplantatabstoßung vorherzusagen und/oder zu quantifizieren und ermöglichen dadurch die Optimierung der immunsuppressiven Therapie (62).

Laut aktuellem Stand der Wissenschaft gibt es keinen Marker, der die Wahrscheinlichkeit für eine Transplantatabstoßung sicher vorhersagen kann.

## 5.1.12

## 5.2 CSF-1

### 5.2.1 Das Zytokin CSF-1

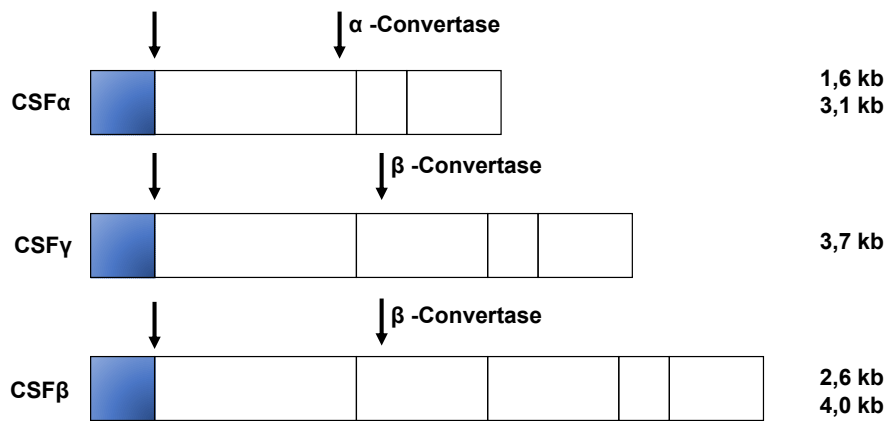
Der Makrophagenkolonie-stimulierende Faktor (M-CSF), auch CSF-1 (colony-stimulating-factor 1) genannt, gehört zu der Gruppe der Glykoproteine und reguliert als hämatopoetischer Wachstumsfaktor das Wachstum, die Differenzierung, Proliferation, Aktivierung, Rekrutierung und das Überleben von Monozyten und Makrophagen sowie von weiteren Zellen, welche den CSF-1-Rezeptor (CSF-1R) tragen. Dazu gehören u.a. Vorläuferzellen, dendritische Zellen, Osteoklasten und Mikroglia (63, 64). CSF-1 ist u.a. an immunologischen und inflammatorischen Reaktionen, Knochenstoffwechsel und Schwangerschaft beteiligt (65).

Die Expression von CSF-1 erfolgt in drei biologisch aktiven Isoformen: einem zellmembrangebundenen Glykoprotein, einem sezernierten Glykoprotein und einem sezernierten Proteoglykan (66). CSF-1 stimuliert reife Makrophagen und Monozyten, Oberflächenantigene (MHC-II—Rezeptor, Fc-Rezeptor) zu bilden und Zytokine und Mediatoren auszuschütten.

CSF-1 wird u.a. kontinuierlich von Fibroblasten, Stromazellen des Knochenmarks, Endothelzellen, B- und T-Zellen, Monozyten und Makrophagen, Muskelzellen, Osteoblasten sowie von Endometrium, Dezidualzellen und Trophoblasten produziert. In der Niere produzieren tubuläre Zellen, Mesangialzellen und Podozyten CSF-1 (67). Einige physiologische oder pathologische Bedingungen (Entzündung, Malignom, Autoimmunität) können zu einer vermehrten Sekretion führen (64).

### 5.2.2 Die Struktur von CSF-1

Das Gen, welches für CSF-1 codiert, liegt auf dem kurzen Arm von Chromosom 1p13-p21 (68). Aus der primären mRNA entstehen durch alternatives Spleißen fünf Transkripte (1,6 kb, 2,6 kb, 3,1 kb, 3,7 kb, 4,0 kb). Abbildung 2 zeigt diese fünf Transkripte. Durch co- und posttranslationale Modifizierung entstehen drei reife CSF-1 Isoformen: CSF $\alpha$  (256 Aminosäuren), CSF $\beta$  (554 Aminosäuren) und CSF $\gamma$  (438 Aminosäuren) (69, 70). Das biologisch aktive CSF-1 liegt als Homodimer vor, mit drei inter- und sechs intramolekularen Disulfidbrücken (71). Jedes Monomer besteht auf vier  $\alpha$ -Helices und einem  $\beta$ -Faltblatt (72).



**Abbildung 2: Schematische Darstellung Vorläufer-mRNA von CSF-1**

Die verschiedenen Abschnitte des CSF-1-Proteins sind schematisch in Farbe dargestellt. Von links nach rechts blau: Leadersequenz, grün: gemeinsamer M-CSF-Kern, rot: Spacer-Region, orange: Transmembranregion und lila: intrazelluläre Region. Schwarze Pfeile stehen für die Spaltung durch Signalpeptidase (modifiziert nach (70))

### 5.2.3 CSF-1 Rezeptor

Der CSF-1-Rezeptor (CSF-1R) wird vom c-fms Protoonkogen kodiert und zeigt eine ligandengesteuerte Tyrosinkinaseaktivität (63). Er besitzt eine glykosylierte extrazelluläre Region, die aus fünf Immunglobulindomänen (D1-D5, 498 Aminosäuren) besteht, einer Transmembrandomäne (21 Aminosäuren), einer intrazellulären Domäne (36 Aminosäuren) und einer intrazellulären Tyrosinkinasedomäne (398 Aminosäuren) (73).

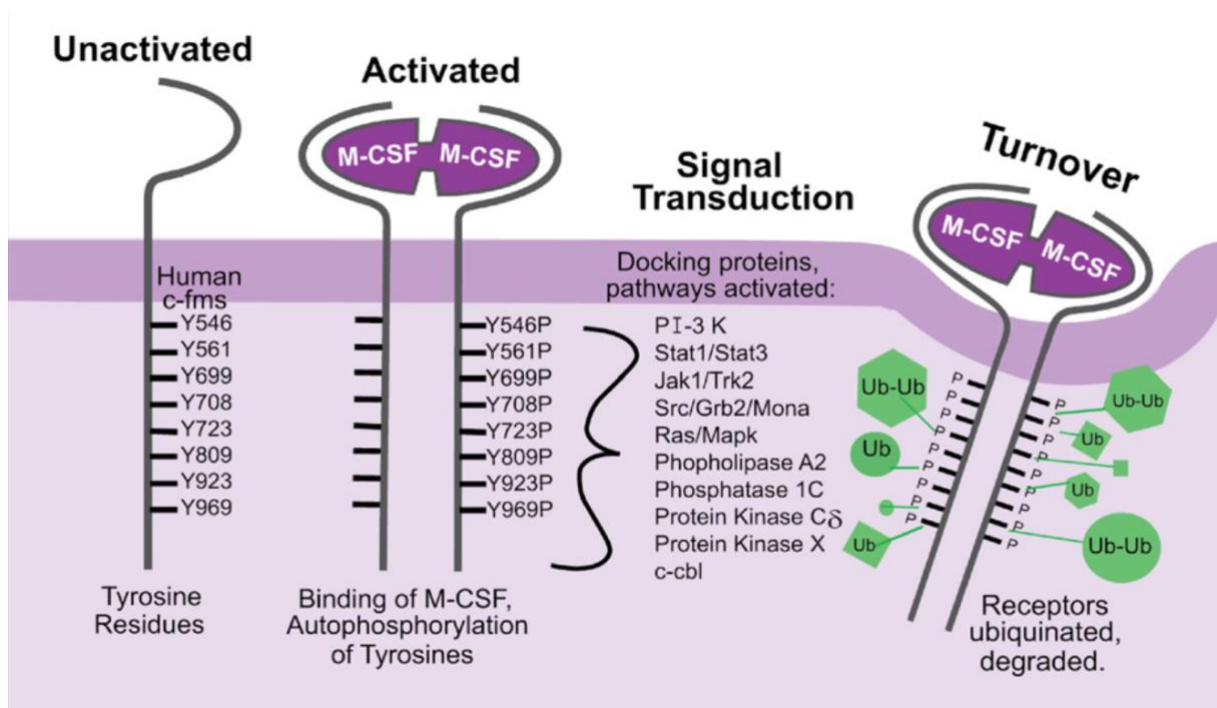
Der CSF-1R wird in niedriger Konzentration auf hämatopoetischen Stammzellen und in höherer Konzentration auf Monozyten, Makrophagen, Osteoklasten, dendritischen Zellen, Mikroglia und Paneth-Zellen exprimiert. Er wird außerdem auf Oozyten, Trophoblasten, Dezidualzellen und auf Tubulusepithelzellen der Niere exprimiert (73).

CSF-1R ist die einzige Rezeptortyrosinkinase mit zwei Liganden: CSF-1 und Interleukin 34 (IL-34) (74, 75). Das Vorhandensein eines zweiten Liganden, zusätzlich zu CSF-1, wurde angenommen, nachdem Mäuse mit CSF-1-R Mangel schwerere phänotypische Auffälligkeiten aufwiesen als Mäuse mit alleinigem CSF-1 Mangel (siehe 5.3.1.) (76).

## 5.2.4 Signaltransduktion am CSF-1 Rezeptor

Das CSF-1-Homodimer bindet über die D2- und D3-Domäne an den CSF-1R. Die Orientierung von D2 vom Liganden weg ist von besonderer Bedeutung (77). Es kommt zur Rezeptordimerisierung und anschließend zur Autophosphorylierung von mindestens acht internen Tyrosinen. Zytoplasmatische Proteine werden aktiviert und initiieren zahlreiche Signaltransduktionskaskaden (70). Infolge dieser Kaskaden kommt es zu Stimulation der CSF-1R tragenden Zellen, sich zu proliferieren oder zu differenzieren.

Die Signaltransduktionsmoleküle werden ubiquitiniert. Schließlich wird der CSF-1-R durch Clathrin-vermittelte Endozytose aufgenommen und in den Lysosomen abgebaut (70).



**Abbildung 3: CSF-1 Signaltransduktion**

Der CSF-1R heißt c-fms. Die nummerierten Positionen der verschiedenen intrazellulären Tyrosine, die nach Bindung von CSF-1 phosphoryliert werden, sind gezeigt. Das CSF-1 Dimer bindet an zwei c-fms Monomere. Es kommt zur Rezeptordimerisierung und Autophosphorylierung der Tyrosine. Die phosphorylierten Tyrosine aktivieren zytoplasmatische Proteine, welche verschiedene Signaltransduktionskaskaden aktivieren. Die Proteine werden schließlich ubiquitiniert (grün) und über Clathrin-vermittelte Endozytose entfernt (70).



### **5.2.5 CSF-1 in der Niere**

CSF-1 wird in der Niere konstitutiv von Tubulusepithelzellen (TECs), Podozyten und Mesangiumzellen gebildet (78). CSF-1 fördert die intrarenale Rekrutierung, Proliferation und Aktivierung von Makrophagen, die wiederum Mediatoren freisetzen, die für die Induktion der Apoptose von TECs verantwortlich sind, wodurch CSF-1 die makrophagenabhängige Entzündung in der Niere fördert (79).

Jedoch gibt es wachsende Evidenz dafür, dass Makrophagen auch entzündungshemmende Zytokine freisetzen können, die die Angiogenese fördern und daher eine positive Rolle bei der Gewebereparatur spielen (80).

Tubuluszellen des äußeren Nierenmarks reagieren besonders sensitiv auf Ischämie-Reperfusionsschäden. Menke et al. injizierten Mäusen nach einem Ischämie-Reperfusionsschaden CSF-1 und konnten zeigen, dass CSF-1 die Reparatur nach einer Ischämie förderte. CSF-1 stimuliert die vermehrte Infiltration von Makrophagen, welche die Epithelreparatur fördern und die interstitielle Fibrose verhindern. Zudem konnte gezeigt werden, dass CSF-1R auf geschädigten TECs vermehrt exprimiert wird und die geschädigten TECs vermehrt CSF-1 generieren. Durch TECs generiertes CSF-1 bindet an den CSF-1R und stimuliert die tubuläre Proliferation und wirkt der tubulären Apoptose entgegen. Dies ist von entscheidender Bedeutung bei der Selbstreparatur der Tubuli (81).

CSF-1 ist im Serum von gesunden Patienten in einer stabilen Konzentration messbar (82). Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz zeigen einen erhöhten CSF-1 Spiegel (83). Im ersten Monat nach der Transplantation nimmt die CSF-1 Konzentration ab und stabilisiert sich auf nahezu normale Werte.

### **5.2.6 Die Rolle von CSF-1 bei der akuten Abstoßung**

Während der akuten Abstoßung wird CSF-1 hauptsächlich von einwandernden T-Zellen, Makrophagen und TECs produziert (84).

Monozyten werden durch lokal produzierte Chemokine aus der systemischen Zirkulation in das Transplantat rekrutiert und reifen zu Gewebemakrophagen (78). Es kommt aufgrund der Proliferation von Makrophagen zu einer Verstärkung der Entzündungsreaktion und, zusammen mit einer Lymphozyteninfiltration, zur Zerstörung des Organs (85).

In einer Studie von Jose et al. konnte gezeigt werden, dass bei Blockade der CSF-1 Signaltransduktion, durch Blockade des CSF-1R, die Makrophagenproliferation stark gehemmt wurde, was zu einer verminderten lokalen Makrophagenakkumulation geführt hat. CSF-1 scheint also der dominierende Faktor bei der Stimulation der Makrophagenproliferation und letztlich der Akkumulation von Makrophagen während der Abstoßung zu sein (85). Eine frühe Infiltration von Makrophagen ist ein negativer prognostischer Faktor (86).

Bei Patienten mit akuter Abstoßung steigt die CSF-1 Konzentration an. Bei Cyclosporintoxizität oder anderen Gründen für eine Transplantatdysfunktion bleibt die Konzentration jedoch stabil (67). Zirkulierendes CSF-1 korreliert mit einer schlechten Prognose bei der akuten Organabstoßung Nierentransplantierter (70).

## **5.3 IL-34**

### **5.3.1 Das Zytokin IL-34**

Humanes IL-34 dient als zweiter Ligand für CSF-1R. Forscher, die an Studien zu CSF-1 und CSF-1R beteiligt waren, spekulierten von Anfang an über die Existenz eines zweiten Liganden für CSF-1R, nachdem sie entdeckten, dass der Phänotyp für CSF-1-R Knockout Mäuse viel schwerer war als der Phänotyp der CSF-1 defizienten Mäuse (87). Im Jahr 2008 entdeckten Lin et al. ein Protein mit 241 Aminosäuren, das sie Interleukin 34 (IL-34) nannten, welches die Differenzierung, Proliferation und das Überleben myeloischer Zellreihen reguliert und als zweiter Ligand an CSF-1R bindet. IL-34-mRNA wird in verschiedenen Geweben exprimiert, einschließlich Herz, Gehirn, Lunge, Leber, Niere, Milz, Thymus, Hoden, Eierstock, Dünndarm, Prostata und Dickdarm, und kommt in der Milz am häufigsten vor (74).

Verschiedene Studien mit Anti-CSF-1R monoklonalen Antikörpern zeigten unterschiedliche Effekte auf die CSF-1R-Signalübertragung und legen nahe, dass IL-34 und CSF-1 in ihrer biologischen Aktivität und Signalaktivierungskinetik nicht identisch sind und dass sowohl der Phänotyp als auch die Funktion von Makrophagen unterschiedlich von den beiden Liganden reguliert werden (88).

### **5.3.2 Struktur von IL-34**

Humanes IL-34 wird vom IL-34-Gen, welches auf Chromosom 16q22.1 liegt, codiert und ist ein N-glykosyliertes sekretiertes Protein. Das translatierte IL-34 Protein umfasst

242 Aminosäuren mit einer molekularen Masse von 39kD (89). IL-34 ist ein nicht kovalentes Homodimer. Jedes Monomer besteht aus einem charakteristischen antiparallelen Helix-Bündel, aus vier  $\alpha$ -Helices ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\alpha_3$ ,  $\alpha_4$ ), die zu einem Kern gebündelt sind, und zwei  $\beta$ -Strängen ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ), welche die Helices verbinden, sowie terminalen Verlängerungen, die für die Rezeptorbindung verwendet werden ( $\alpha_A$ ,  $\alpha_B$ ,  $\alpha_C$  und  $\alpha_D$ ) (90).

### **5.3.3 Bindung von IL-34 an CSF-1R**

IL-34 bindet über zwei Immunglobulindomänen (D1-D3 und D4-D5) an CSF-1R, während CSF-1 nur über D1-D3 an den Rezeptor bindet. Der IL-34:CSF-1R-Komplex wird durch hydrophobe Wechselwirkungen vermittelt, während der CSF-1:CSF-1R Komplex auf hydrophilen Wechselwirkungen beruht (91). Die relativen Positionen der Ligandenbindungsdomänen D2-D3 unterscheiden sich um ca. 20°, wodurch die beiden Liganden in unterschiedlichen Winkeln gebunden werden können. CSF-1 wird tiefer als IL-34 gebunden (92). Dies könnten Gründe für die komplementären, jedoch auch unterschiedlichen Signalmuster sein, die diese beiden Liganden zeigen.

### **5.3.4 Protein-Tyrosin-Phosphatase $\zeta$ (PTP- $\zeta$ ), ein zweiter IL-34 Rezeptor**

Untersuchungen des Expressionsmusters von IL-34 durch Nandi et al. im Gehirn deuteten darauf hin, dass IL-34 neben CSF-1R einen weiteren Rezeptor bindet. Massenspektrometrische Analysen bestätigten: PTP- $\zeta$  (Protein-Tyrosin-Phosphatase  $\zeta$ ) ist ein weiterer Rezeptor von IL-34 (93).

PTP- $\zeta$  ist ein Chondroitinsulfat Proteoglykan der Zelloberfläche und wird vor allem von neuronalen Vorläufer- und Gliazellen exprimiert. IL-34, das mit PTP- $\zeta$  interagiert, fördert die Tyrosinphosphorylierung von FAK (Focal Adhesion Kinase) und Paxillin, was wiederum die intrazellulären Signalwege, einschließlich Zellproliferation, Klonogenität und Motilität, insbesondere von Glioblastomzellen, hemmt (91).

### **5.3.5 Syndecan-1**

Segaliny et al. entdeckten Syndecan-1 als einen Regulator der biologischen Aktivität von IL-34. Syndecan-1 ist ein Typ-I-Transmembran-Heparinsulfat-Proteoglykan und hat, je nach Höhe, Einfluss auf die Bioverfügbarkeit von IL-34, die Interaktion zwischen IL-34 und CSF-1R und die Signalübertragung am CSF-1R. Beispielsweise ist eine

geringe Expression von Syndecan-1 an der Zelloberfläche mit einer begrenzten Interaktion zwischen IL-34 und CSF-1R verbunden, während eine hohe Expression von Syndecan-1 die IL-34 induzierte Aktivierung verstärkt (94).

### **5.3.6 IL-34 in der Niere**

IL-34 wird von TECs gebildet und fördert während des akuten Nierenversagens die makrophagenabhängige Zerstörung der TECs, wodurch die nachfolgende CKD verschlechtert wird. Vermittelt wird dies zum einen durch die verstärkte intrarenale Makrophagenproliferation und zum anderen durch eine erhöhte Proliferation myeloider Knochenmarkzellen. Dadurch wird die Anzahl zirkulierender Monozyten erhöht, welche durch Chemokine in die Niere rekrutiert werden.

Nach einer Nierentransplantation ist ein Ischämie-Reperfusionsschaden unvermeidlich. Es konnte ein Anstieg der Expression in TECs von IL-34, CSF-1R und PTP- $\zeta$  in transplantierten Nieren gezeigt werden. Außerdem ist IL-34 im Serum von Nierentransplantierten erhöht und steigt mit zunehmender Entzündung an (95).

## 6 Material und Methoden

### 6.1 Material

#### 6.1.1 Patientenkollektiv

Für die Untersuchung stand Blut von 215 Patienten nach Aufklärung und Einwilligung (Ethikantragsnummer 837.467.13 (9152-F)), zur Verfügung, die in der nephrologischen Abteilung der I. Medizinischen Klinik Mainz zwischen 2014 und 2019 eine Nierentransplantation erhielten.

Retrospektiv wurden die Patientendaten aus dem klinischen Computersystem (SAP) der Universitätsmedizin Mainz, den jeweiligen Patientenakten sowie – falls verfügbar – Arztbriefe und Labordaten der weiterbehandelnden niedergelassenen Nephrologen erfasst und in das klinische Register „Datenbank-Front-End“, auf Grundlage des Datenbankmanagementsystems PostgreSQL, eingespeist (erhobene Parameter siehe Anhang).

#### 6.1.2 Materialien zur venösen Blutentnahme

*Tabelle 7: Materialien zur venösen Blutentnahme*

<b>Geräte</b>	<b>Hersteller</b>
Octeniderm® farblos	Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland
Safety-Multifly®- butterfly Nadel 21G	Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland
S-Monovette® 7,5ml Z	Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland
Multi-Adapter für S- Monovette®	Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland

### 6.1.3 Laborgeräte

Alle Geräte, die in dieser Dissertation regelmäßig verwendet wurden, sind in der folgenden Übersicht aufgelistet.

*Tabelle 8: Laborgeräte*

<b>Geräte</b>	<b>Hersteller</b>
Gefrierschränke	Liebherr – 40°C Thermo scientific, Herafreeze Basic – 86°C
Kühlschränke	Liebherr Kühlgefrier Kombi Modell Premium – 4°C, – 20°C Privileg Kühlgefrier Kombi – 4°C, – 20°C Bosch economic, computer control freezer – 4°C, – 20°C Bosch – 4 °C Liebherr Premium Kühl-Gefrier-Kombi – 4°C und – 20°C
Zentrifugen	Thermo Scientifix, 2012, Heraeus Multifuge X3R, Kat.-Nr. 75004515 Thermo Scientific, 2011, Heraeus Megafuge 16, Kat.-Nr. 75004230
Pipettierhilfe	Hirschmann Laborgeräte, Standard Kat.-Nr. 8806295
Pipetten	Eppendorf Research plus 0,5-10 µl, Kat. Nr. 343817 A; 10-100 µl, Kat.-Nr. 354111 A; 100-1000 µl, Kat.-Nr. 364264
Waage	Ohaus analytical plus
Elisa-Reader	Thermo Scientific Appliskan Multimode Microplate Mikroplatten Reader
Elisa-Washer	Thermo Scientific™ Wellwash™ Microplate Washer

### 6.1.4 Verbrauchsmaterial

*Tabelle 9: Verbrauchsmaterial*

<b>Verbrauchsmaterial</b>	<b>Hersteller</b>
Handschuhe	Satra, Sempercar premium, Kat.-Nr. EN 374-2
Pipettenspitzen	StarLaB, Extended Length, 10 µl, Kat.-Nr. S1110-3000 Sarstedt, Standardtips, 200 µl, Kat.-Nr.70.760.017 Sarstedt, Standardtips, 1000 µl, Kat.-Nr.70.762.010
Pipetten für Pipetus	Greiner Bio-one 5 ml, Kat.-Nr. 606180 10ml, Kat.-Nr. 607180; 25 ml, Kat.-Nr. 760180
Kryoröhrchen	Thermo Fisher Scientific 1,8 ml, Kat.-Nr. 5000-0020
Falcons	Greiner Bio-one 15 ml, Kat.-Nr. 188271 Greiner Bio-one 50 ml, Kat.- Nr. 227261

## 6.1.5 Antikörper

Tabelle 10: Antikörper

<b>Fertigsatz</b>	<b>Hersteller</b>
Human M-CSF Capture Antibody	R&D Systems, Minneapolis, USA
Human M-CSF Detection Antibody	R&D Systems, Minneapolis, USA
Human IL-34 Capture Antibody	R&D Systems, Minneapolis, USA
Human IL-34 Detection Antibody	R&D Systems, Minneapolis, USA

## 6.1.6 Fertigsätze

Tabelle 11: Fertigsätze

<b>Fertigsatz</b>	<b>Hersteller</b>
DuoSet ELISA, human M-CSF/IL-34	R&D Systems, Minneapolis, USA
Reagent Diluent (1% BSA in PBS)	R&D Systems, Minneapolis, USA
Stop Solution (2 N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	R&D Systems, Minneapolis, USA
Substrate Solution (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> und Tetramethylbenzidine 1:1)	R&D Systems, Minneapolis, USA
Wash Buffer (0,05% Tween 20 in PBS)	R&D Systems, Minneapolis, USA

## 6.1.7 Computer-Programme

Mit den unten aufgeführten Computer-Programmen und -Betriebssystemen wurden Daten gesammelt und verarbeitet

Tabelle 12: Computer-Programme

<b>Bezeichnung</b>	<b>Hersteller</b>
Apple Macintosh	Apple, USA
Elisa-Software	Thermo Scientific SkanIt Software for Appliskan 2.3
Microsoft Excel	Microsoft, USA
Microsoft Internet Explorer 6.0	Microsoft, USA
Microsoft Windows XP Professional	Microsoft, USA
Microsoft PowerPoint	Microsoft, USA

## 6.2 Methoden

### 6.2.1 Venöse Blutentnahme und Weiterverarbeitung

Es wurde bei 215 Patienten, welche eine Nierentransplantation erhielten, zu unterschiedlichen Zeitpunkten eine venöse Blutentnahme vorgenommen. Die Blutprobengewinnung erfolgte direkt vor Transplantation (am Tag der Transplantation) sowie 7 Tage (+/- 2 Tage) bzw. 3 Monate (+/- 14 Tage) nach der Nierentransplantation (siehe Tabelle 13).

Gemäß Herstellerinformationen wurde die Haut an der Einstichstelle desinfiziert. Mit Hilfe einer Butterfly-Nadel wurden unter venöser Stauung zwei S-Monovetten 7,5 ml Z entnommen. Die Monovetten wurden bei Raumtemperatur gelagert und innerhalb von 24 Stunden nach der Entnahme verarbeitet.

Die Proben wurden bei 3000 RPM für 5 Minuten bei Raumtemperatur zentrifugiert. Anschließend wurde das Serum (Überstand) abpipettiert, aliquotiert und bei  $-80^{\circ}\text{C}$  bis zur weiteren Verwendung gelagert.

Tabelle 13: Zeitpunkte der Blutabnahme

$T_0$	$T_1$	$T_2$
Vor Transplantation	7d nach Transplantation ( $\pm 2\text{d}$ )	90d nach Transplantation ( $\pm 14\text{d}$ )

### 6.2.2 Sicherung einer Abstoßung

Bei klinischem Verdacht einer Organabstoßung wurde diese umgehend histologisch gesichert beziehungsweise ausgeschlossen. Die Biopsie erfolgte in lokaler Betäubung unter sonographischer Kontrolle. Die histologische Beurteilung erfolgte in der Nephropathologie Erlangen, Leiterin Frau Prof. Dr. Kerstin Amann.

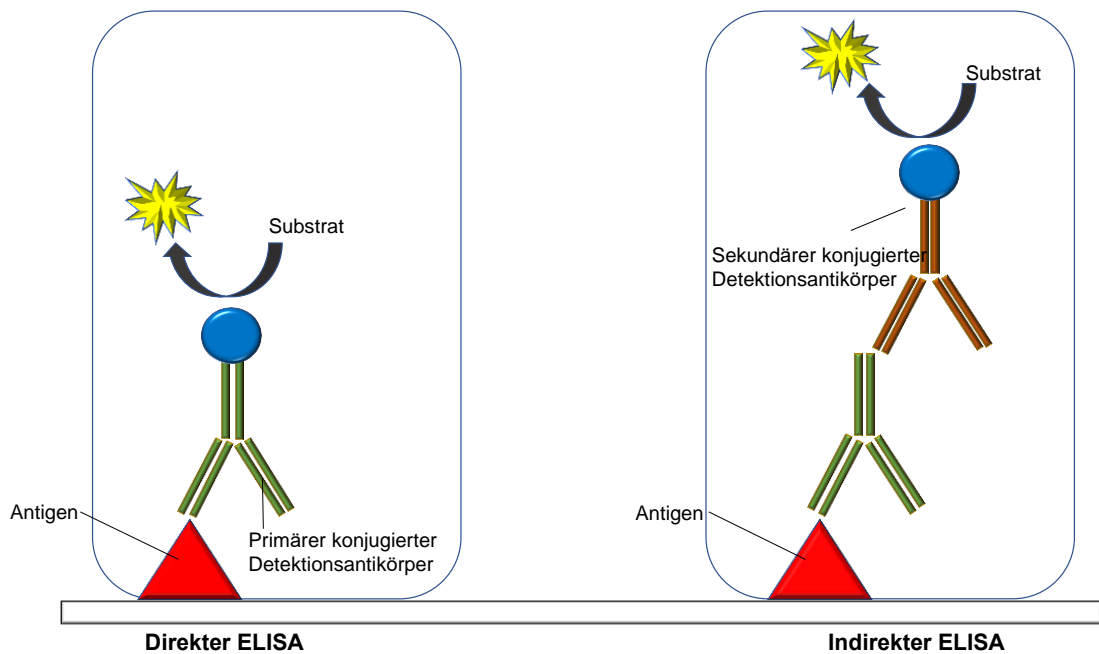


## 6.2.3 Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

### 6.2.3.1 Prinzip des ELISA

Die Abkürzung ELISA steht für „Enzyme Linked Immunosorbent Assay“ und gehört zur Gruppe der Immunassays. Sie dient dem quantitativen Nachweis von Proteinen mittels enzymatischer Markierung. Routinemäßig verwendete Proben umfassen Serum, Plasma, Zellkulturüberstände, Speichel, Zelllysate und Urin. Dabei wird die Eigenschaft von Antikörpern, an spezifische Antigene zu binden, genutzt. Es entsteht ein Antigen-Antikörper-Komplex. Ein an den Antikörper gebundenes Enzym katalysiert die Reaktion eines Substrates in ein Produkt, welches meist als Farbumschlag messbar ist. Dieser Farbumschlag wird photometrisch gemessen und erlaubt eine Quantifizierung des nachgewiesenen Proteins. Man kann vier verschiedene Formen des ELISAs unterscheiden:

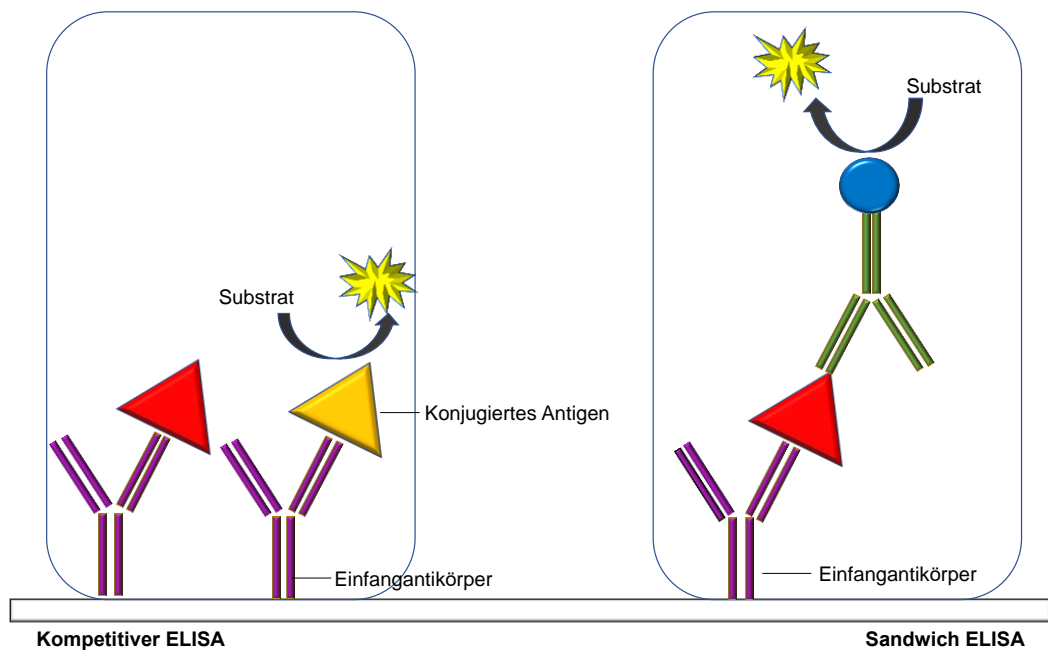
1. Direkter ELISA: Ein Antigen wird direkt auf einer Mikrotiterplatte immobilisiert. Ein konjugierter Detektionsantikörper bindet an das Antigen. Durch Hinzugabe eines Substrates wird ein Signal erzeugt, welches proportional zur Menge des Analyten ist. Die direkte ELISA ist schnell, da nur ein Antikörper verwendet wird. Anders als bei der indirekten ELISA werden Kreuzreaktionen vermieden. Allerdings kann die Signalstärke im Vergleich zur indirekten ELISA niedrig sein.
2. Indirekter ELISA: Ähnlich wie bei der ELISA, wird ein Antigen auf einer Mikrotiterplatte immobilisiert. Nun folgt jedoch ein zusätzlicher Amplifikationsschritt. Es wird ein nicht konjugierter primärer Detektionsantikörper hinzugefügt, der an das Antigen bindet. Anschließend wird ein konjugierter sekundärer Antikörper, der gegen den primären Antikörper gerichtet ist, hinzugegeben. Durch Hinzugabe eines Substrates wird dann ein Signal erzeugt, welches proportional zur Menge des Analyten ist. Durch die Bindung eines sekundären Antikörpers kann es zu einer signalverstärkenden Wirkung kommen. Dadurch, dass primäre Antikörper unkonjugiert verwendet werden können und wenige konjugierte sekundäre Antikörper reichen, ist die indirekte ELISA besonders flexibel.



**Abbildung 4: Schematische Darstellung einer direkten und indirekten ELISA**

Das Antigen (rotes Dreieck) bindet auf den Boden der Mikrotiterplatte. An das Antigen bindet ein Detektionsantikörper. Der Detektionsantikörper kann entweder mit einem Enzym (blauer Kreis) konjugiert sein, oder er fungiert als Erkennungsstruktur für einen sekundär konjugierten Antikörper (Eigene Abbildung mittels Microsoft PowerPoint).

3. Kompetitiver ELISA: Die kompetitive ELISA wird besonders für kleine Moleküle verwendet, wenn diese zu klein sind, um zwei Antikörper zu binden. Es wird ein Einfangantikörper (Capture Antibody) auf eine Platte aufgetragen. Statt eines konjugierten Detektionsantikörpers wird ein konjugiertes Antigen verwendet. Je mehr Antigen in der Probe vorhanden ist, desto weniger konjugiertes Antigen bindet an den Einfangantikörper. Durch Hinzugabe des Substrates wird ein Signal erzeugt, welches umgekehrt proportional zur Menge des in der Probe vorhandenen Analyten ist.
4. Sandwich ELISA: Es werden zwei Antikörper verwendet, welche spezifisch an das nachzuweisende Antigen binden. Es wird ein Einfangantikörper (Capture Antibody) auf eine Mikrotiterplatte aufgetragen. Daraufhin wird die Probe hinzugegeben und das interessierende Protein bindet. Nun wird ein konjugierter Detektionsantikörper hinzugefügt, welcher zusätzlich über ein anderes Epitop an das Antigen bindet. Durch Hinzugabe des Substrates wird ein Signal erzeugt, welches proportional zur Menge des Analyten ist.



**Abbildung 5: Schematische Darstellung einer kompetitiven und Sandwich ELISA**

Bei der kompetitiven ELISA konkurriert das Antigen (rotes Dreieck) mit einem strukturähnlichen konjugierten Antigen (orangenes Dreieck) um die Bindung an einem Einfangantikörper. Bei der Sandwich ELISA bindet ein Einfangantikörper das Antigen, welche wiederum von einem konjugierten Detektionsantikörper gebunden wird. (Eigene Abbildung mittels Microsoft PowerPoint)

### 6.2.3.2 Human M-CSF/IL-34 ELISA

In dieser Arbeit wurde zur Messung der Zytokinkonzentration im Serum ein Sandwich-Enzym-Linked-Immunosorbent-Assay (ELISA) nach Protokoll des DuoSet ELISA Development System Human M-CSF/IL-34 der Firma R&D durchgeführt. Untersucht wurden die Zytokine CSF-1 (M-CSF) und IL-34 im Serum. In Tabelle 14 sind die Reagenzien aufgelistet, welche für die Durchführung der ELISA verwendet wurden.

Tabelle 14: Reagenzien für ELISA

<b>Reagenz</b>	<b>Zusammensetzung</b>
PBS	137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 8.1 mM Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 1.5 mM KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , pH 7.2-7.4, 0.2 µm filtered
Wash Buffer	0.05% Tween® 20 in PBS, pH 7.2-7.4
Reagent Diluent	1% BSA in PBS, pH 7.2-7.4, 0.2 µm filtered
Substrate Solution	1:1 mixture of Color Reagent A (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) and Color Reagent B (Tetramethylbenzidine )
Stop Solution	2 N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Streptavidin-HRP	Gebrauchsfertig
Human IL-34 Capture Antibody	Verdünnt mit 1ml PBS
Human IL-34 Detection Antibody	Verdünnt mit 1,0ml Reagent Diluent
Human IL-34 Standard	Verdünnt mit 0,5ml Reagent Diluent
Human M-CSF Capture Antibody	Verdünnt mit 1ml PBS
Human M-CSF Detection Antibody	Verdünnt mit 1,0ml Reagent Diluent
Human M-CSF Standard	Verdünnt mit 0,5ml Reagent Diluent

Vor ihrer Verwendung wurden alle Reagenzien auf Raumtemperatur gebracht. Wie im Handbuch beschrieben, wurden die gefriergetrockneten Capture Antibody, Detection Antibody und Standard gelöst und aliquotiert.

Im Folgenden wird das angewandte ELISA-Verfahren schrittweise dargestellt:

1. Zu Beginn wurde der Capture Antibody mit PBS-Lösung verdünnt. Eine 96-Mikrotiter-Platte wurde mit 100 µl pro Well von dem Capture Antibody benetzt. Anschließend wurde die Platte mit einer selbstklebenden Folie verschlossen und bei Raumtemperatur (RT) über Nacht inkubiert.
2. Tags darauf wurden die Wells 3-mal mit 300 µl pro Well Wash Buffer gewaschen. Hierzu wurde ein ELISA Washer (Thermo Scientific) genutzt. Anschließend wurde der verbliebende Wash Buffer durch Ausklopfen der Platte auf sauberen Zellstoff entfernt. Im Folgenden wird dieser Vorgang als *Waschen* bezeichnet.
3. Es wurden 300 µl Reagent Diluent in die Wells pipettiert, um die freien Proteinbindungsstellen zu blocken. Die Platte wurde verschlossen und für 1 h bei Raumtemperatur inkubiert.

4. Der Waschvorgang wurde noch einmal, wie bei Schritt 2, wiederholt.
5. Nun wurden je 100 µl der Blutprobe bzw. Standardlösung pro Well pipettiert und über Nacht bei 4°C inkubiert
6. Der Waschvorgang wurde wiederholt.
7. Es wurden frisch angesetzte 100 µl Detektionsantikörper, in Reagent Diluent gelöst, pro Well pipettiert. Daraufhin wurde die Platte verschlossen und für zwei Stunden bei RT inkubiert.
8. Der Waschvorgang wurde wiederholt.
9. Es wurde 100 µl Streptavidin-HRP Solution in die Wells pipettiert. Anschließend wurde die Platte vor Licht geschützt, abgedeckt und für 20 Minuten bei RT inkubiert.
10. Der Waschvorgang wurde wiederholt.
11. Es wurden 100 µl Substrate Solution pro Well pipettiert. Die Platte wurde vor Licht geschützt, abgedeckt und für 20 Minuten bei RT inkubiert.
12. Das in der Substrate Solution enthaltene Tetramethylbenzidine oxidierte und es entstand eine blaue Farbe
13. Im Anschluss wurden 50 µl Stop Solution pro Well pipettiert und durch vorsichtiges Schwenken ein gründliches Vermischen erreicht. Die Stop Solution enthält H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, welches einen Farbumschlag von blau nach gelb erzeugt.
14. Die Absorption wurde anschließend bei einer Wellenlänge von 450nm mittels eines Microplate Readers gemessen. Abgeleitet von den bekannten Konzentrationen der Standardreihe konnte Rückschluss auf die Konzentrationen der detektierten Zytokine im Serum gezogen werden.

## 6.2.4 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung wurden zunächst Datenauszüge aus der Datenbank generiert und sortiert. Alle statistischen Analysen, Tabellen und die gezeigten Grafiken wurden mit Microsoft Excel (Office 2020), Prism9 (GraphPad Software, San Diego, USA) und unter Zuhilfenahme des Programms SPSS® Statistics Version 27 realisiert. Mit Hilfe von nichtparametrischen Tests wurden zwei Gruppen verglichen. Bei Vergleichen zwischen ungepaarten Stichproben wurde der Mann-Whitney-U-Test angewendet. Der Friedmann-Test wurde für gepaarte Stichproben angewendet. Kategoriale Variablen wurden in Kreuztabellen für absolute und relative Häufigkeiten erfasst. Die statistische Signifikanztestung erfolgte mittels chi<sup>2</sup>-Test. Um eine Korrelation zwischen unterschiedlichen Parametern zu identifizieren, wurde die Rangkorrelation nach Spearman eingesetzt.

Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  wurde als statistisch signifikant betrachtet.

## 7 Ergebnisse

### 7.1 Deskriptive Analyse des Patientenkollektivs

In die Studie wurden 215 Patienten eingeschlossen, von denen 109 zur statistischen Auswertung herangezogen wurden. Aufgrund organisatorischer Schwierigkeiten stand nicht von allen Patienten das Blut von dem Tag der Transplantation zur Verfügung, weshalb keine Messungen der CSF-1- und IL-34-Konzentrationen zum Zeitpunkt  $T_0$  möglich waren. Außerdem mussten einige Patienten von der Auswertung ausgeschlossen werden, da die ELISA-Messungen keine verwertbaren Daten boten.

Drei Transplantate mussten im Verlauf wieder explantiert werden. 7 Patienten starben innerhalb des Beobachtungszeitraums.

Die deutliche Mehrheit der Transplantationen war AB0-kompatibel, 97 von 109.

#### 7.1.1 Geschlechtsverteilung

Es wurden  $n = 109$  Patienten mit Nierentransplantation zur statistischen Auswertung herangezogen. Der Anteil der Frauen betrug 38 % ( $n = 41$ ), derjenige der Männer 62 % ( $n = 67$ ).

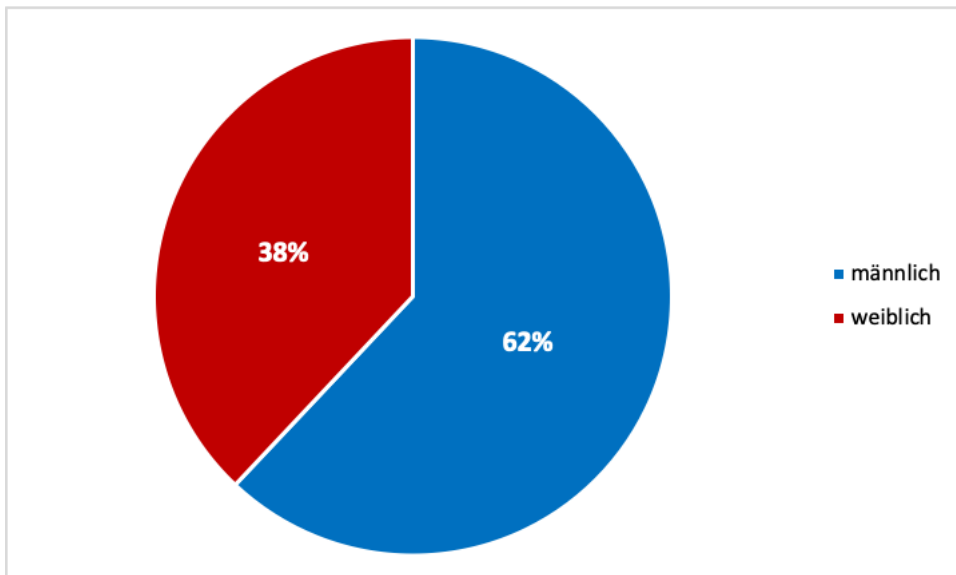


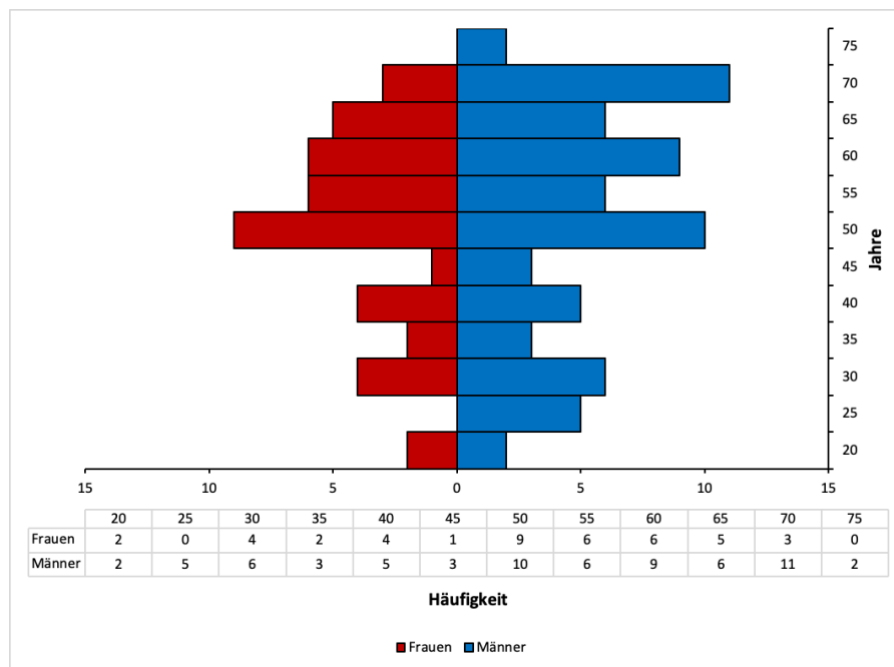
Abbildung 6: Geschlechtsverteilung im Patientenkollektiv

## 7.1.2 Altersverteilung bei Transplantation

Die männlichen Empfänger der Nierenspende waren bei der Transplantation im Mittel 50,91 Jahre ( $SD \pm 15,71$ ) alt. Die weiblichen Empfänger der Nierenspende waren im Mittel 49,98 Jahre ( $SD \pm 13,57$ ) alt.

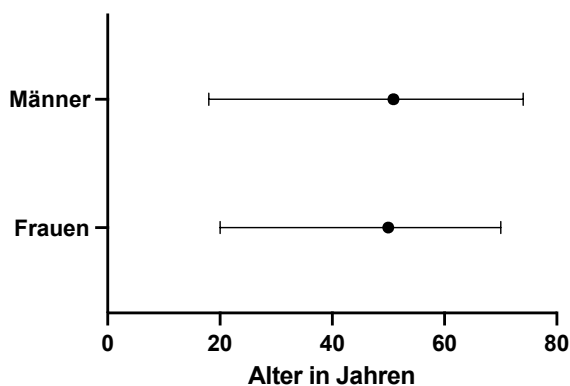
Die männlichen Nierenspender waren durchschnittlich 51,49 Jahre alt ( $n = 43$ ,  $SD \pm 14,25$ ) und die weiblichen Nierenspender 56,27 Jahre ( $n = 66$ ,  $SD \pm 13,70$ ).

**A**



**B**

Altersverteilung Empfänger



**C**

Altersverteilung Spender

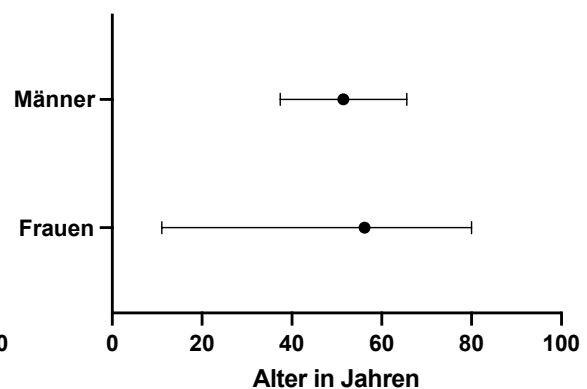


Abbildung 7: (A) Alterspyramide Empfänger, (B) Altersverteilung Empfänger (Mittelwert mit Range), (C) Altersverteilung Spender (Mittelwert mit Range)



### 7.1.3 Wartezeit und Transplantationsformen

Die durchschnittliche Wartezeit von Beginn der Nierenersatztherapie bis zur Transplantation lag bei 31,39 Monaten (zu den Kriterien des Allokationsverfahrens und Definition der Wartezeit siehe 5.1.4).

Es gab 83 (76,1 %) Leichennierenspenden und 26 (23,9 %) Lebendnierenspenden. Bei den Leichennierenspenden standen von 66 Patienten Daten über die durchschnittliche Wartezeit zur Verfügung. Sie betrug im Mittel 37,59 Monate. Bei den Lebendnierenspenden standen insgesamt 19 Daten über die durchschnittliche Wartezeit zur Verfügung. Sie betrug im Mittel 9,84 Monate.

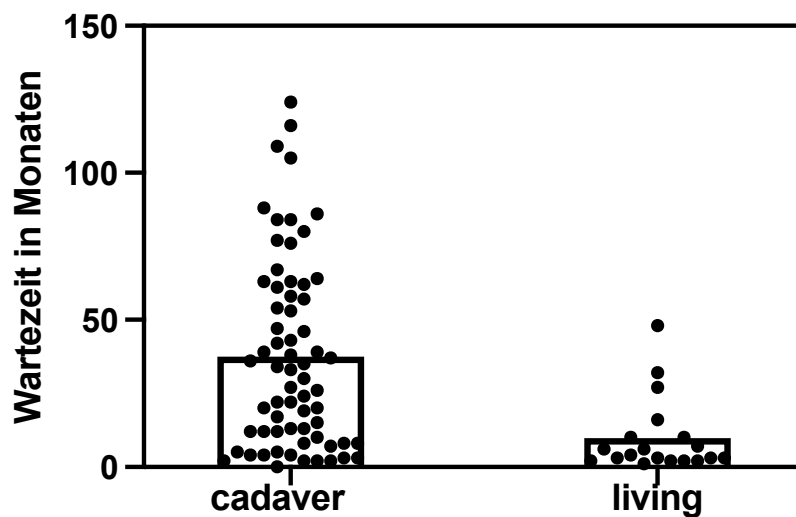


Abbildung 8: Wartezeit nach Transplantationsmodus

### 7.1.4 Abstoßung

Insgesamt kam es bei 46 Patienten (42,20 %) innerhalb des beobachteten Zeitraums zu einer Abstoßung, die bioptisch gesichert wurde. Davon lag bei 13 Patienten (28,26 %) eine Borderline-Abstoßung vor. Bei 23 Patienten wurde im Verlauf eine zweite Biopsie durchgeführt.

## 7.1.5 Komplikationen

Im beobachteten Zeitraum kam es bei 42 Patienten (38,52 %) zu einer oder mehreren der in Tabelle 15 zusammengefassten Komplikationen. 27 Patienten hatten eine der unten genannten Komplikationen, 13 Patienten hatten zwei Komplikationen und zwei Patienten erlitten drei Komplikationen.

Tabelle 15: Komplikationen nach Tx

<b>Komplikation</b>	<b>Anzahl / (%)</b>
<b>Lymphocele</b>	15 (13,8 %)
Operative Sanierung	6
Konservativ	9
<b>Urinom</b>	2 (1,9 %)
Operative Sanierung	2
Konservativ	1
<b>Harnstau</b>	6 (5,6 %)
Operative Sanierung	4
<b>Tx-Nierenarterienstenose</b>	3 (2,8 %)
Operative Sanierung	2
Konservativ	1
<b>Harnleiterstenose</b>	4 (3,7 %)
Operative Sanierung	3
Konservativ	1
<b>Revisions-Operation</b>	17 (15,7 %)
<b>Hämatom</b>	12 (11,0 %)
Operative Sanierung	4
Konservativ	8

## 7.1.6 Basisparameter Abstoßung vs. keine Abstoßung

Tabelle 16: Basisparameter Abstoßung vs. keine Abstoßung (Mittelwert  $\pm$  SD), p<sup>a</sup>: Mann-Whitney-U, t-Test, Chi-Quadrat-Test, exakter Test nach Fischer

Variable	Patienten mit Abstoßung (n = 46)	Patienten ohne Abstoßung (n = 63)	p <sup>a</sup>
Empfängeralter (Jahre)	50,49 $\pm$ 17,67	50,60 $\pm$ 12,66	n.s.
Wartezeit (Monate)	25,78 $\pm$ 28,28	35,51 $\pm$ 32,86	0.04
Spenderalter (Jahre)	57,85 $\pm$ 12,53	51,86 $\pm$ 14,32	0.005
Geschlecht Empfänger (m/w)	14/32	29/34	n.s.
Geschlecht Spender (m/w)	15/36	28/30	n.s.
Lebendspende/Leichenspende	13/33	13/50	n.s.
Blutgruppe Empfänger (A/AB/B/0)	21/1/6/18	28/4/8/23	n.s.
Blutgruppe Spender (A/AB/B/0)	21/2/6/17	26/3/6/28	n.s.
<b>Komplikationen</b>			
Lymphocele	7 (15,22 %)	8 (12,70 %)	n.s.
operative Sanierung	4	2	
konservative Sanierung	3	6	
Urinom (ja/nein)	1 (2,17 %)	1 (1,59 %)	n.s.
operative Sanierung	1	1	
konservative Sanierung	1	1	
Harnstau	4 (8,70 %)	2 (3,17 %)	n.s.
Tx-Nierenarterienstenose	2 (4,35 %)	1 (1,59 %)	n.s.
Harnleiterstenose	4 (8,70 %)	0	0.047
Revisions-OP	10 (21,74 %)	7 (11,11 %)	n.s.
Hämatom	3 (6,52 %)	9 (14,29 %)	n.s.
CMV-Virämie	21 (45,65 %)	20 (31,75 %)	n.s.
CMV-Erkrankung	2 (4,35 %)	2 (3,17 %)	n.s.
BK-Virämie	15 (32,61 %)	14 (22,22 %)	n.s.
BK-Nephropathie	5 (10,87 %)	0	0.021
<b>Immunologie</b>			
CMV-IgG vorhanden Spender	30 (65,22 %)	32 (50,79 %)	n.s.
CMV-IgG vorhanden Empfänger	30 (65,22 %)	33 (52,38 %)	n.s.
EBV-IgG vorhanden Spender	37 (80,43 %)	45 (71,43 %)	n.s.
EBV-IgG vorhanden Empfänger	43 (93,48 %)	58 (92,06 %)	
HLA-A-Mismatches (2/1/0)	8/18/7	15/27/8	n.s.
HLA-B-Mismatches (2/1/0)	7/9/17	10/25/15	n.s.
HLA-DR-Mismatches (2/1/0)	6/15/12	13/19/18	n.s.

## 7.2 Verlauf von CSF-1 und IL-34 in den ersten 3 Monaten nach Transplantation

Die Konzentrationen von CSF-1 und IL-34 unterlagen individuellen Schwankungen. Es wurden sowohl zum Zeitpunkt T<sub>0</sub> (d.h. vor Transplantation) als auch im Verlauf innerhalb der Gruppen (mit und ohne Abstoßung) sowie zwischen diesen beiden sehr unterschiedliche Konzentrationen gemessen. Die Standardabweichung der gemessenen Konzentration von IL-34 von Patienten bei denen es zu keiner Abstoßung im Beobachtungszeitraum kam betrug zum Zeitpunkt T<sub>0</sub> 1049,01 pg/ml. Bei Patienten, die eine Abstoßung im Verlauf zeigten, lag die Standardabweichung der gemessenen IL-34 Konzentration bei 1347,15 pg/ml (siehe Tabellen 17, 18).

Tabelle 17: IL-34 und CSF-1 Messungen Gruppe „keine Abstoßung“

		<b>Statistiken<sup>a</sup></b>					
		T0 IL-34 [pg/ml]	T1 IL-34 [pg/ml]	T2 IL-34 [pg/ml]	T0 CSF-1 [pg/ml]	T1 CSF-1 [pg/ml]	T2 CSF-1 [pg/ml]
N	Gültig	61	58	49	55	38	24
	Fehlend	2	5	14	8	25	39
Mittelwert		369,39	239,33	210,22	209,21	139,92	121,92
Median		45,99	47,82	42,96	115,33	60,60	60,43
Std.-Abweichung		1016,587	490,606	498,026	258,323	162,482	123,104
Spannweite		6620,71	2244,96	2746,01	1343,79	662,84	377,30
Minimum		7,40	4,79	1,50	1,19	2,86	,26
Maximum		6628	2250	2748	1345	666	378
Perzentile	25	31,93	33,61	28,76	36,14	21,20	17,92
	50	45,99	47,82	42,96	115,33	60,60	60,43
	75	266,21	178,15	103,25	314,91	186,50	223,64

Tabelle 18: IL-34 und CSF-1 Messungen Gruppe „Abstoßung“

		<b>Statistiken<sup>a</sup></b>					
		T0 IL-34 [pg/ml]	T1 IL-34 [pg/ml]	T2 IL-34 [pg/ml]	T0 CSF-1 [pg/ml]	T1 CSF-1 [pg/ml]	T2 CSF-1 [pg/ml]
N	Gültig	41	39	29	39	33	21
	Fehlend	5	7	17	7	13	25
Mittelwert		679,44	490,53	459,53	226,72	212,82	171,36
Median		69,59	67,09	46,96	120,47	109,74	64,83
Std.-Abweichung		1401,141	1234,900	1241,513	300,046	380,654	265,326
Spannweite		6367,98	5700,06	4882,29	1682,90	1888,44	971,40
Minimum		1,07	,14	4,23	8,63	8,63	3,92
Maximum		6369	5700	4887	1692	1897	975
Perzentile	25	32,62	34,54	33,44	53,87	54,57	28,85
	50	69,59	67,09	46,96	120,47	109,74	64,83
	75	431,13	234,14	151,46	296,94	159,34	202,15

Mittels Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben wurden die CSF-1 und IL-34 Konzentrationen zum Zeitpunkt  $T_0$  zwischen den Patienten, die im weiteren Beobachtungszeitraum eine Abstoßung zeigten und denen, die keine Abstoßung zeigten, verglichen. Es zeigte sich sowohl für die CSF-1 Konzentration zum Zeitpunkt  $T_0$  („Abstoßung“  $Mdn = 120,47$  pg/ml; „keine Abstoßung“  $Mdn = 115,33$  pg/ml), als auch für die IL-34 Konzentration („Abstoßung“  $Mdn = 69,59$  pg/ml; „keine Abstoßung“  $Mdn = 45,99$  pg/ml) kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (CSF-1  $T_0$ :  $z = 0,702$ ,  $p = 0,48$ ; IL-34  $T_0$ :  $z = 1,181$ ,  $p = 0,24$ ).

## 7.2.1 Anpassung der Messwerte von CSF-1 und IL-34

Um eine Vergleichbarkeit der Konzentrationsverläufe von CSF-1 und IL-34 zu den drei verschiedenen Messpunkten zu erreichen, wurden im Folgenden einige Tests mit relativen Konzentrationen, ausgehend von der Konzentration an  $T_0$ , durchgeführt ( $T_1/T_0 \cdot 100$  bzw.  $T_2/T_0 \cdot 100$ ).

Tabelle 19: Deskriptive Statistik relative IL-34 und CSF-1 Konzentrationen

Abstoßung			Statistiken					
			T0 IL-34 relativ	T1 IL-34 relativ	T2 IL-34 relativ	T0 CSF-1 relativ	T1 CSF-1 relativ	T2 CSF-1 relativ
nein	N	Gültig	61	58	49	55	37	24
		Fehlend	2	5	14	8	26	39
	Mittelwert		100	199,47	132,66	100	214,56	133,89
	Median		100	87,94	90,05	100	50,93	28,26
	Std.-Abweichung		0	712,00	229,86	0	637,41	248,91
	Spannweite		0	5382,73	1366,69	0	3435,31	928,34
	Minimum		100	28,69	13,17	100	2,04	,15
	Maximum		100	5411,42	1379,85	100	3437,35	928,48
	Perzentile	25	100	57,64	39,13	100	17,68	16,25
		50	100	87,94	90,05	100	50,93	28,26
		75	100	102,10	98,81	100	75,23	129,39
ja	N	Gültig	41	38	29	39	29	18
		Fehlend	5	8	17	7	17	28
	Mittelwert		100	72,26	85,84	100	81,46	72,22
	Median		100	77,92	73,99	100	69,98	38,66
	Std.-Abweichung		0	32,31	117,79	0	63,29	86,96
	Spannweite		0	123,42	648,01	0	284,31	318,08
	Minimum		100	,28	7,32	100	17,07	1,22
	Maximum		100	123,70	655,32	100	301,38	319,31
	Perzentile	25	100	45,15	29,87	100	40,19	17,99
		50	100	77,92	73,99	100	69,98	38,66
		75	100	101,15	97,14	100	100,09	78,81

## 7.2.2 Vergleich IL-34 Verlauf Abstoßung vs. keine Abstoßung

Mittels Friedman-Test wurden die Änderungen der Konzentrationen zu den drei Messpunkten (T<sub>0</sub>, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>) miteinander verglichen. Dabei zeigte sich, dass sich die IL-34 Konzentration zu den verschiedenen Messpunkten sowohl in der Gruppe der Patienten bei denen es im Verlauf zu keiner Abstoßung kam, als auch in der Gruppe bei der es zu einer Abstoßung kam unterschieden („keine Abstoßung“: *Chi-Quadrat* (2) = 21,57, *p* = 0,01, *n* = 42; „Abstoßung“: *Chi-Quadrat* (2) = 21,88, *p* = 0,01, *n* = 33).

Tabelle 20: Deskriptive Statistik IL-34 relativ für Friedman-Test

		Deskriptive Statistiken							
Abstoßung		N	Mittelwert	Std.- Abweichung	Minimum	Maximum	Perzentile		
							25.	50. (Median)	75.
nein	T0 IL-34 relativ	42	100,00	,000	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	T1 IL-34 relativ	42	118,54	172,732	33,94	1041,54	57,64	90,55	100,69
	T2 IL-34 relativ	42	127,48	227,070	13,17	1379,85	38,34	90,47	97,96
ja	T0 IL-34 relativ	33	100,00	,000	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	T1 IL-34 relativ	33	79,32	27,572	30,68	123,70	53,26	84,41	102,32
	T2 IL-34 relativ	33	83,16	111,043	7,32	655,32	30,04	73,22	97,14

Anschließend durchgeführte Post-hoc-Tests (Dunn-Bonferroni-Tests) zeigten für die Gruppe, in der es zu keiner Abstoßung kam, dass die IL-34 Konzentration von T<sub>0</sub> zu T<sub>1</sub> signifikant sank (*z* = 0,643, *p* = 0,01, Effektstärke nach Cohen 1992 *r* = 0,01). Von T<sub>1</sub> zu T<sub>2</sub> zeigte sich dagegen kein signifikanter Unterschied. In der Gruppe der Patienten, die im Beobachtungszeitraum eine Abstoßung zeigten, kam es zu keiner signifikanten Änderung der IL-34-Konzentration von T<sub>0</sub> zu T<sub>1</sub>. Von T<sub>1</sub> zu T<sub>2</sub> sank die IL-34 Konzentration jedoch signifikant (*z* = 0,788, *p* = 0,004, Effektstärke nach Cohen 1992 *r* = 0,14).

Tabelle 21: Ergebnisse des Post-hoc-Tests IL-34

		Paarweise Vergleiche				
Abstoßung	Sample 1-Sample 2	Teststatistik	Standard fehler	Standardtests tastistik	Sig.	Anp. Sig. <sup>a</sup>
nein	T0-T1	,643	,218	2,946	,003	,010
	T1-T2	,357	,218	1,637	,102	,305
	T0-T2	1,000	,218	4,583	<,001	,000
ja	T0-T1	,333	,246	1,354	,176	,527
	T1-T2	,788	,246	3,200	,001	,004
	T0-T2	1,121	,246	4,554	<,001	,000

Jede Zeile prüft die Nullhypothese, dass die Verteilungen in Stichprobe 1 und Stichprobe 2 gleich sind. Asymptotische Signifikanz (zweiseitige Tests) werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist ,050.

a. Signifikanzwerte werden von der Bonferroni-Korrektur für mehrere Tests angepasst.

Im dargestellten Boxplot (Abbildung 9) wurden 3 Messwerte (5.311,42 pg/ml, 1.041,54 pg/ml, 655,00 pg/ml) für die relative Konzentrationsänderung von IL-34 von T<sub>0</sub> zu T<sub>1</sub> sowie 4 Messwerte (1.379,85 pg/ml, 755,07 pg/ml, 743,71 pg/ml, 655,32 pg/ml) für die relative Konzentrationsänderung von T<sub>1</sub> zu T<sub>2</sub> aufgrund starker Streuungen zur besseren Darstellung nicht abgebildet.

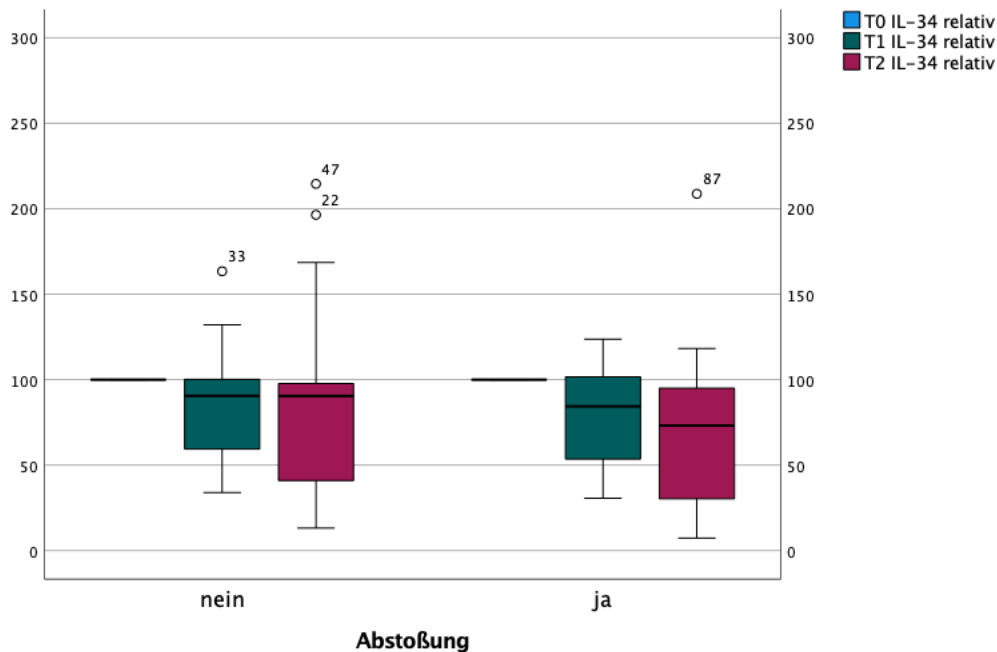


Abbildung 9: relative IL-34 Konzentration zum Zeitpunkt T<sub>0</sub>, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> unterteilt in Abstoßung nein/ja dargestellt als Boxplot mit Median, 25. und 75. Perzentile

Anschließend wurde mittels Mann-Whitney-U Test überprüft, ob es einen Unterschied der relativen IL-34 Konzentration zwischen den Patienten mit und ohne Abstoßung gab. Für den Zeitpunkt T<sub>1</sub> gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Patienten mit Abstoßung ( $Mdn = 77,92$ ) und ohne Abstoßung ( $Mdn = 87,94$ ) ( $z = -0,916$ ,  $p = 0,36$ ). Für die Konzentrationsänderung von T<sub>1</sub> zu T<sub>2</sub> konnte ebenfalls kein Unterschied zwischen den Patienten mit Abstoßung ( $Mdn = 73,22$ ) und ohne Abstoßung ( $Mdn = 90,89$ ) gezeigt werden ( $z = -1,542$ ,  $p = 0,123$ ).

### 7.2.3 Vergleich CSF-1 Verlauf Abstoßung vs. keine Abstoßung

Es wurden die Änderungen der CSF-1 Konzentrationen zu den drei Messpunkten ( $T_0$ ,  $T_1$ ,  $T_2$ ) mittels Friedman-Test miteinander verglichen. In beiden Gruppen (Abstoßung vs. keine Abstoßung) konnte ein signifikanter Unterschied der CSF-1 Messungen zu den verschiedenen Messpunkten gezeigt werden („keine Abstoßung“: *Chi-Quadrat* (2) = 16,42,  $p = 0,01$ ,  $n = 19$ ; „Abstoßung“: *Chi-Quadrat* (2) = 11,20,  $p = 0,004$ ,  $n = 15$ ).

Tabelle 22: Deskriptive Statistik CSF-1 relativ für Friedman-Test

		Deskriptive Statistiken							
Abstoßung		N	Mittelwert	Std.- Abweichung	Minimum	Maximum	Perzentile		
							25.	50. (Median)	75.
nein	T0 CSF-1 relativ	19	100,00	,000	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	T1 CSF-1 relativ	19	96,57	238,881	,00	1076,56	14,46	43,93	69,06
	T2 CSF-1 relativ	19	76,57	136,966	,15	599,91	16,62	27,61	52,28
ja	T0 CSF-1 relativ	15	100,00	,000	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	T1 CSF-1 relativ	15	75,79	45,090	26,49	203,52	34,83	77,52	96,65
	T2 CSF-1 relativ	15	54,70	53,847	1,22	217,58	20,33	38,58	67,26

Im Anschluss durchgeführte Post-hoc-Tests (Dunn-Bonferroni-Tests) zeigten für die Gruppe, in der es zu keiner Abstoßung kam, dass die CSF-1 Konzentration von  $T_0$  zu  $T_1$  signifikant sank ( $z = 0,947$ ,  $p = 0,011$ , Effektstärke nach Cohen 1992  $r = 0,22$ ). In der Gruppe der Patienten mit Abstoßung sank die CSF-1 Konzentration von  $T_0$  zu  $T_2$  signifikant ( $z = 1,20$ ,  $p = 0,03$ , Effektstärke nach Cohen 1992  $r = 0,31$ ).

Tabelle 23: Ergebnisse des Post-hoc-Tests CSF-1

		Paarweise Vergleiche					
Abstoßung	Sample 1-Sample 2	Teststatistik	Standard fehler	Standardtests tatistik	Sig.	Anp. Sig. <sup>a</sup>	
nein	T1-T2	,316	,324	,973	,330	,991	
	T0-T2	1,263	,324	3,893	<,001	,000	
	T0-T1	,947	,324	2,920	,004	,011	
ja	T1-T2	,400	,365	1,095	,273	,820	
	T0-T2	1,200	,365	3,286	,001	,003	
	T0-T1	,800	,365	2,191	,028	,085	

Jede Zeile prüft die Nullhypothese, dass die Verteilungen in Stichprobe 1 und Stichprobe 2 gleich sind. Asymptotische Signifikanzen (zweiseitige Tests) werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist ,050.

a. Signifikanzwerte werden von der Bonferroni-Korrektur für mehrere Tests angepasst.



Im dargestellten Boxplot (Abbildung 10) wurden 3 Messwerte (3.437,35 pg/ml, 1.798,86 pg/ml, 1076,56 pg/ml) für die relative Konzentrationsänderung von CSF-1 von T<sub>0</sub> zu T<sub>1</sub>, sowie 4 Messwerte (9.28,48 pg/ml, 733,09 pg/ml, 599,91 pg/ml, 319,31 pg/ml) für die relative Konzentrationsänderung von T<sub>1</sub> zu T<sub>2</sub> aufgrund starker Streuungen zur besseren Darstellung nicht beachtet.

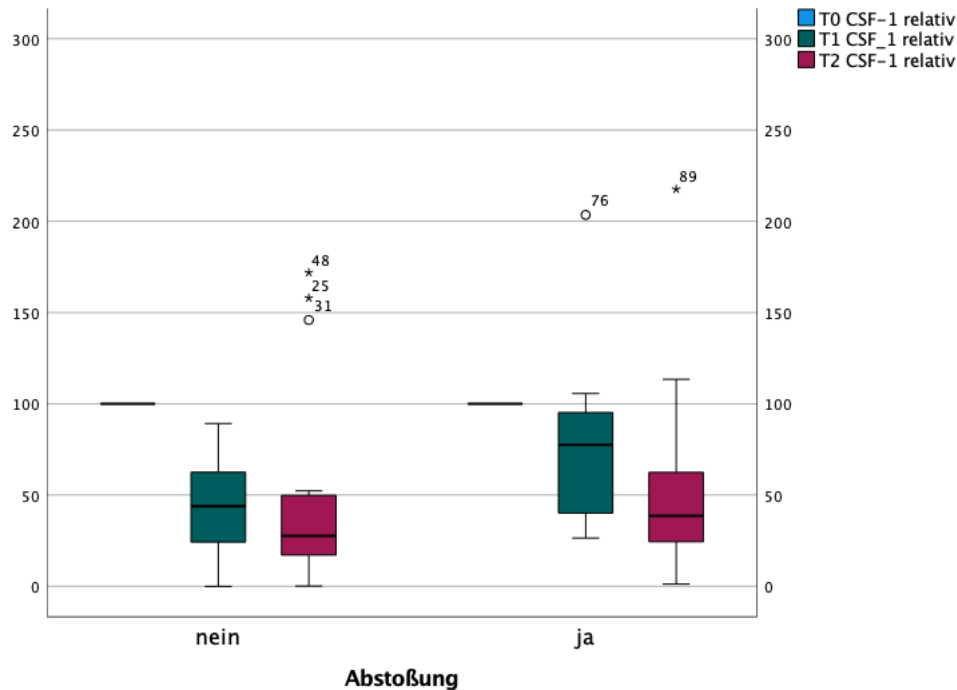


Abbildung 10: relative CSF-1 Konzentration zum Zeitpunkt T<sub>0</sub>, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> unterteilt in Abstoßung nein/ja dargestellt als Boxplot mit Median, 25. und 75. Perzentile

Mittels Mann-Whitney-U-Test wurde anschließend überprüft, ob es einen Unterschied der relativen CSF-1 Konzentrationen zwischen den Patienten mit und ohne Abstoßung gab. Es gab weder für den Zeitpunkt T<sub>1</sub> noch für die Konzentrationsänderung von T<sub>1</sub> zu T<sub>2</sub> signifikante Unterschiede zwischen Patienten die eine Abstoßung zeigten und Patienten die keine Abstoßung zeigten.

Tabelle 24: Mann-Whitney-U-Test CSF-1

Teststatistiken <sup>a</sup>		
	T1 CSF-1 relativ	T2 CSF-1 relativ
Mann-Whitney-U-Test	414,00	173,00
Wilcoxon-W	1080,00	426,00
Z	-1,81	-1,18
Asymp. Sig. (2-seitig)	,07	,24

a. Gruppenvariable: Abstoßung

## 7.2.4 Korrelation zwischen IL-34 und CSF-1

Ob ein Zusammenhang zwischen IL-34 und CSF-1 besteht, wurde mittels Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman (Korrelationskoeffizient Rho,  $\rho$ ) in den Proben, die zu den verschiedenen Messpunkten gewonnen wurden, überprüft. Zu allen Messpunkten korrelierte CSF-1 signifikant mit IL-34. Dabei handelt es sich nach Cohen 1992 um einen mittleren bis starken Effekt.

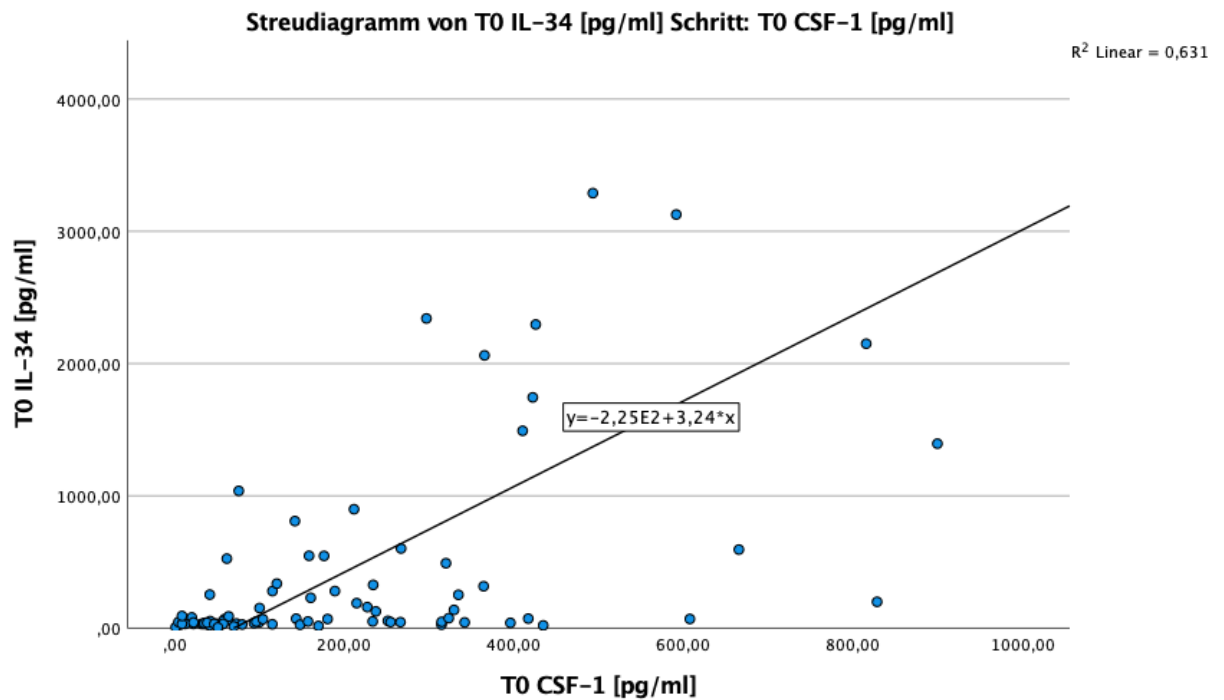


Abbildung 11: Streudiagramm zur Korrelation nach Spearman-Rho  $T_0$  IL-34/ $T_0$  CSF-1 in pg/ml

Tabelle 25: Korrelation nach Spearman-Rho zwischen IL-34 und CSF-1  $T_0$

<b>Korrelationen</b>			T0 IL-34 [pg/ml]	T0 CSF-1 [pg/ml]
Spearman-Rho	T0 IL-34 [pg/ml]	Korrelationskoeffizient	1,000	,595**
		Sig. (2-seitig)	.	<,001
		N	102	90
Spearman-Rho	T0 CSF-1 [pg/ml]	Korrelationskoeffizient	,595**	1,000
		Sig. (2-seitig)	<,001	.
		N	90	94

\*\* . Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

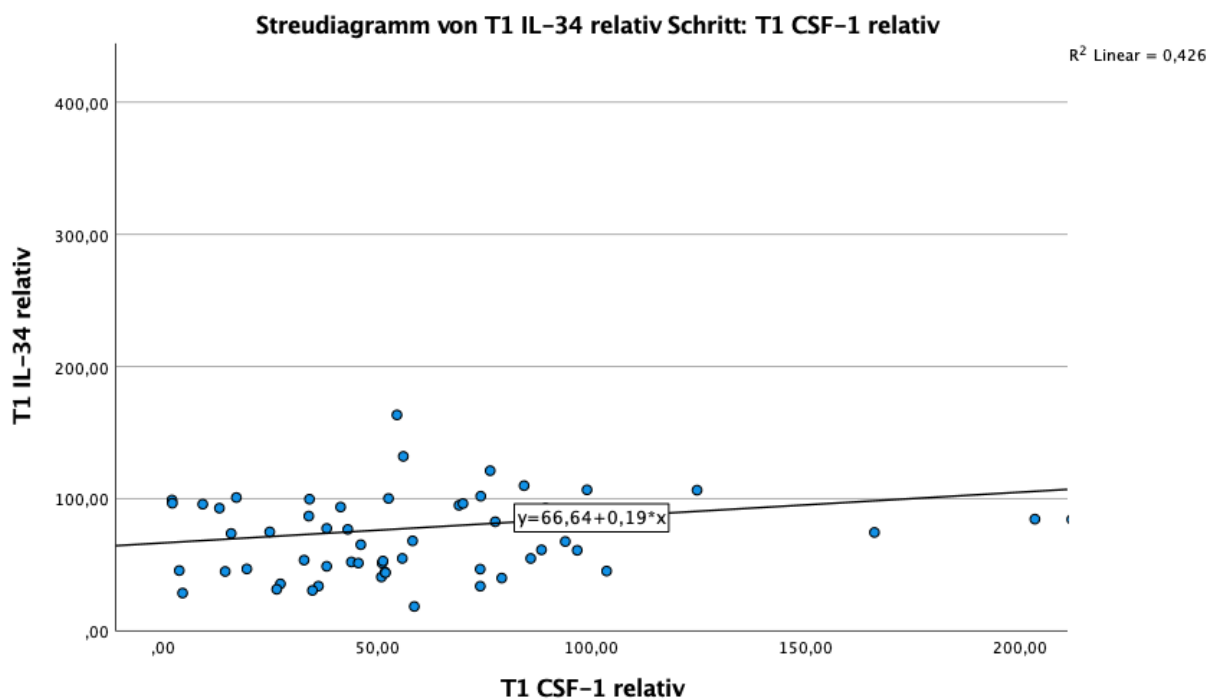


Abbildung 12: Streudiagramm zur Korrelation nach Spearman-Rho T<sub>1</sub> IL-34 relativ/T<sub>1</sub> CSF-1 relativ

Tabelle 26: Korrelation nach Spearman-Rho zwischen IL-34 relativ und CSF-1 relativ T<sub>1</sub>

**Korrelationen**

			T1 IL-34 relativ	T1 CSF-1 relativ
Spearman-Rho	T1 IL-34 relativ	Korrelationskoeffizient	1,000	,295*
		Sig. (2-seitig)	.	,022
		N	96	60
	T1 CSF-1 relativ	Korrelationskoeffizient	,295*	1,000
		Sig. (2-seitig)	,022	.
		N	60	66

\*. Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

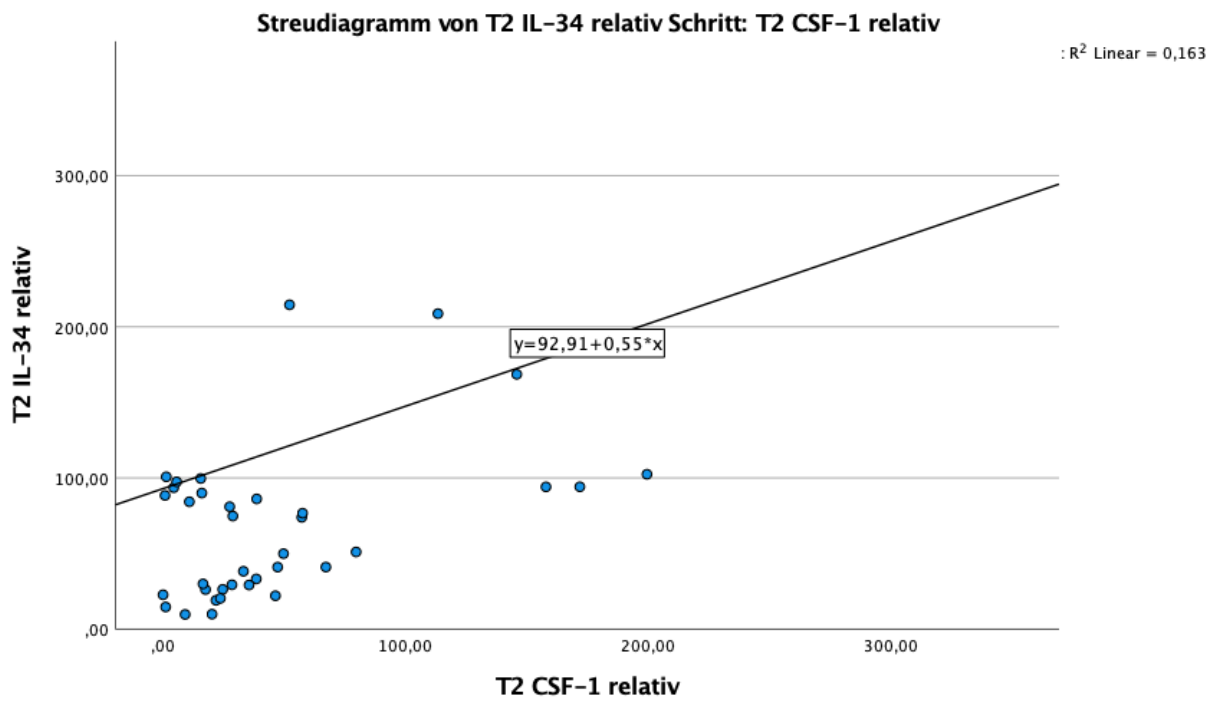


Abbildung 13: Streudiagramm zur Korrelation nach Spearman-Rho T<sub>2</sub> IL-34 relativ/T<sub>2</sub> CSF-1 relativ

Tabelle 27: Korrelation nach Spearman-Rho IL-34 relativ und CSF-1 relativ T<sub>2</sub>

**Korrelationen**

			T2 IL-34 relativ	T2 CSF-1 relativ
Spearman-Rho	T2 IL-34 relativ	Korrelationskoeffizient	1,000	,491**
		Sig. (2-seitig)	.	,001
		N	78	41
	T2 CSF-1 relativ	Korrelationskoeffizient	,491**	1,000
		Sig. (2-seitig)	,001	.
		N	41	42

\*\* . Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

### 7.3 Aufteilung Abstoßung in Subgruppen

Die Patienten, die im Verlauf des Beobachtungszeitraums eine Abstoßung zeigten, wurden nochmal in Subgruppen unterteilt. Nachdem die statistische Testung für die Gesamtzahl der Patienten mit Abstoßung ( $n = 46$ ) im Beobachtungszeitraum (05/2014 – 12/2020) durchgeführt wurde (siehe 7.2), wurden die Tests für die Patienten wiederholt, von denen Blutproben  $\pm 10$  Tage zur Abstoßung zur Verfügung standen ( $n = 25$ ). Die Testung erfolgte ebenfalls an den relativen Konzentrationen von IL-34 und CSF-1.

Tabelle 28: Anzahl Messwerte (BU: Blutuntersuchung)

Gruppe	Anzahl der Messwerte zu den verschiedenen Zeitpunkten					
	T <sub>0</sub> CSF-1	T <sub>1</sub> CSF-1	T <sub>2</sub> CSF-1	T <sub>0</sub> IL-34	T <sub>1</sub> IL-34	T <sub>2</sub> -IL34
alle Abstoßungen ( $n = 46$ )	39	33	21	41	39	29
Abstoßung $\pm 10$ d zur BU ( $n = 25$ )	22	25	16	23	21	13

Tabelle 29: deskriptive Statistik relative IL-34 und CSF-1 Konzentration Subgruppe Abstoßung

		Statistiken					
		T <sub>0</sub> IL-34 relativ	T <sub>1</sub> IL-34 relativ	T <sub>2</sub> IL-34 relativ	T <sub>0</sub> CSF-1 relativ	T <sub>1</sub> CSF-1 relativ	T <sub>2</sub> CSF-1 relativ
N	Gültig	22	19	13	22	18	9
	Fehlend	2	5	11	2	6	15
Mittelwert		100	65,52	95,05	100	86,23	84,90
Median		100	52,91	41,08	100	64,30	38,58
Std.-Abweichung		,0	37,236	172,120	,0	70,841	109,162
Spannweite		0	123,42	648,00	0	274,89	318,09
Minimum		100	,28	7,32	100	26,49	1,22
Maximum		100	123,70	655,32	100	301,38	319,31
Perzentile	25	100	35,68	12,31	100	42,88	14,79
	50	100	52,91	41,08	100	64,30	38,58
	75	100	106,53	94,67	100	108,19	142,42

### 7.3.1 Verlauf IL-34 in Subgruppe „Abstoßung ± 10 Tage“

Die zweifaktorielle Varianzanalyse für Ränge nach Friedman zeigte, dass sich die relativen Konzentrationen von T<sub>0</sub>, T<sub>1</sub> und T<sub>2</sub> unterscheiden ( $Chi\text{-}Quadrat(2) = 11,23, p = 0,04, n = 13$ ). Anschließend durchgeführte Post-hoc-Tests (Dunn-Bonferroni-Tests) zeigten, dass sich die relativen Konzentrationen von T<sub>0</sub> und T<sub>2</sub> signifikant unterscheiden ( $z = 1,31, p = 0,003$ , Effektstärke nach Cohen  $r = 0,36$ ).

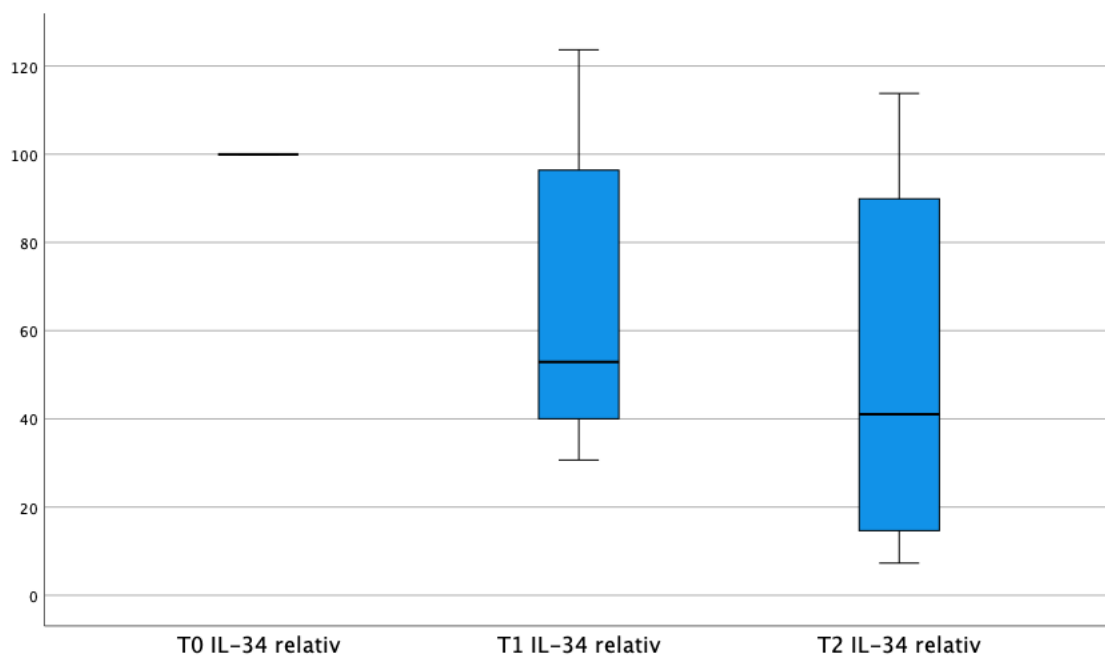


Abbildung 14: relative IL-34 Konzentration zum Zeitpunkt T<sub>0</sub>, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> Gruppe „Abstoßung ± 10d“ dargestellt als Boxplot mit Median, 25. und 75. Perzentile

### 7.3.2 Verlauf CSF-1 in Subgruppe „Abstoßung ± 10 Tage“

Die Konzentration von CSF-1 sank über alle Messpunkte. Die zweifaktorielle Varianzanalyse für Ränge nach Friedman zeigte jedoch, dass es keine signifikanten Unterschiede der relativen Konzentrationen von CSF-1 zwischen T<sub>0</sub>, T<sub>1</sub> und T<sub>2</sub> gab ( $\text{Chi-Quadrat}(2) = 5,250, p = 0,072, n = 8$ ).

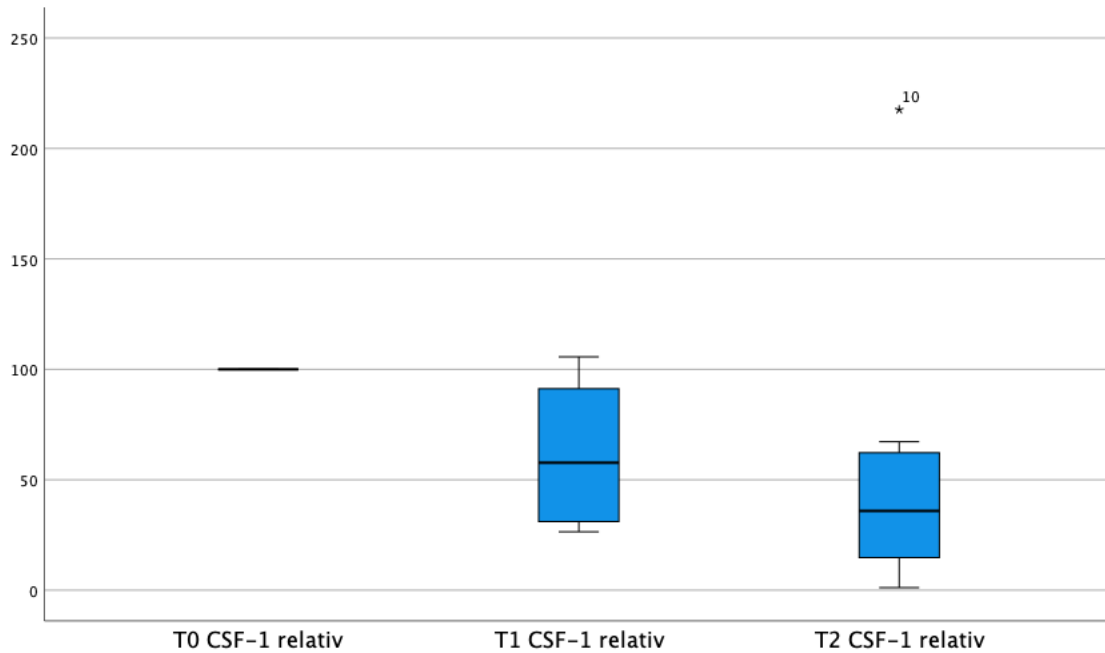


Abbildung 15: relative CSF-1 Konzentration zum Zeitpunkt T<sub>0</sub>, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> Gruppe „Abstoßung ± 10d“ dargestellt als Boxplot mit Median, 25. und 75. Perzentile

## 7.4 Assoziation verschiedener Einflussgrößen mit der Konzentration von IL-34 und CSF-1

Es wurden Subgruppen aller Patienten mit dem Mann-Whitney-U-Test verglichen und ein Zusammenhang mittels des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman überprüft, um einen möglichen Effekt verschiedener Einflussgrößen auf die Konzentrationen von IL-34 und CSF-1 zu untersuchen.

### 7.4.1 Geschlecht

In der Gruppe der Patienten, die im Beobachtungszeitraum eine Abstoßung erlitten waren insgesamt 68,89 % Männer und 31,11 % Frauen. Bei den Patienten, die keine Abstoßung zeigten waren es 57,14 % Männer und 42,86 % Frauen (siehe Abbildung 16).

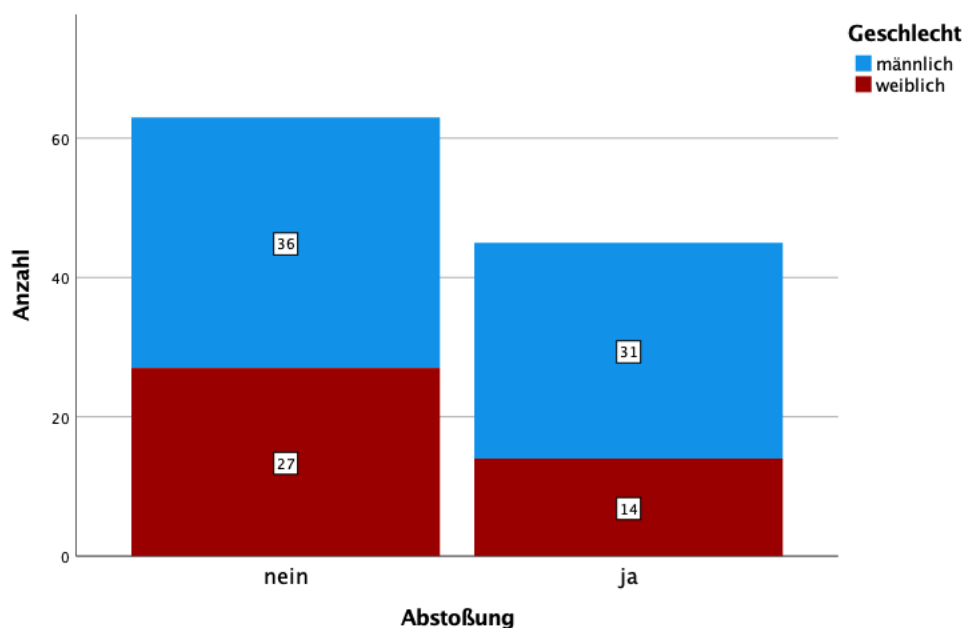


Abbildung 16: Anteil Männer und Frauen



Zu allen drei Messpunkten gab es keine geschlechtsabhängigen Unterschiede der IL-34 und CSF-1 Konzentration (siehe Tabellen 30,31).

Tabelle 30: IL-34 Konzentration bei Männern und Frauen

<b>Keine Abstoßung</b>								
T <sub>0</sub> IL-34 absolut pg/ml	M	F	T <sub>1</sub> IL-34 relativ pg/ml	M	F	T <sub>2</sub> IL-34 relativ pg/ml	M	F
Anzahl	34	27	Anzahl	32	26	Anzahl	28	21
Median	49,30	45,83	Median	87,01	93,74	Median	86,71	90,89
p-Wert	0,642		p-Wert	0,189		p-Wert	0,233	
<b>Abstoßung</b>								
Anzahl	27	14	Anzahl	25	13	Anzahl	20	9
Median	53,14	109,66	Median	84,63	54,87	Median	84,69	48,95
p-Wert	0,527		p-Wert	0,236		p-Wert	0,572	

M = Männer; F = Frauen

Tabelle 31: CSF-1 Konzentration bei Männern und Frauen

<b>Keine Abstoßung</b>								
T <sub>0</sub> CSF-1 absolut pg/ml	M	F	T <sub>1</sub> CSF-1 relativ pg/ml	M	F	T <sub>2</sub> CSF-1 relativ pg/ml	M	F
Anzahl	32	23	Anzahl	23	14	Anzahl	15	9
Median	145,58	79,57	Median	43,08	56,39	Median	27,61	45,57
p-Wert	0,720		p-Wert	0,316		p-Wert	0,558	
<b>Abstoßung</b>								
Anzahl	24	14	Anzahl	18	11	Anzahl	11	6
Median	165,04	96,82	Median	62,90	84,25	Median	32,27	58,53
p-Wert	0,506		p-Wert	0,363		p-Wert	0,180	

## 7.4.2 Art der Nierenspende

Im Beobachtungszeitraum der Studie erhielten die Patienten überwiegend eine Leichennierentransplantation (76,15 %).

Zum Zeitpunkt  $T_0$  gab es für die absolute CSF-1 Konzentration einen signifikanten Unterschied bei den Patienten, die keine Abstoßung zeigten zwischen Leichen- und Lebendnierenempfängern ( $p = 0,022$ ). Leichennierenempfänger hatten eine 3,5-fach erhöhten Median im Vergleich zu Lebendnierenempfängern. Dieser Trend zeigte sich auch bei den Patienten, die eine Abstoßung zeigten und war auch über  $T_1$  und  $T_2$  zu erkennen, auch wenn der Unterschied nicht signifikant war (siehe Tabellen 32, 33).

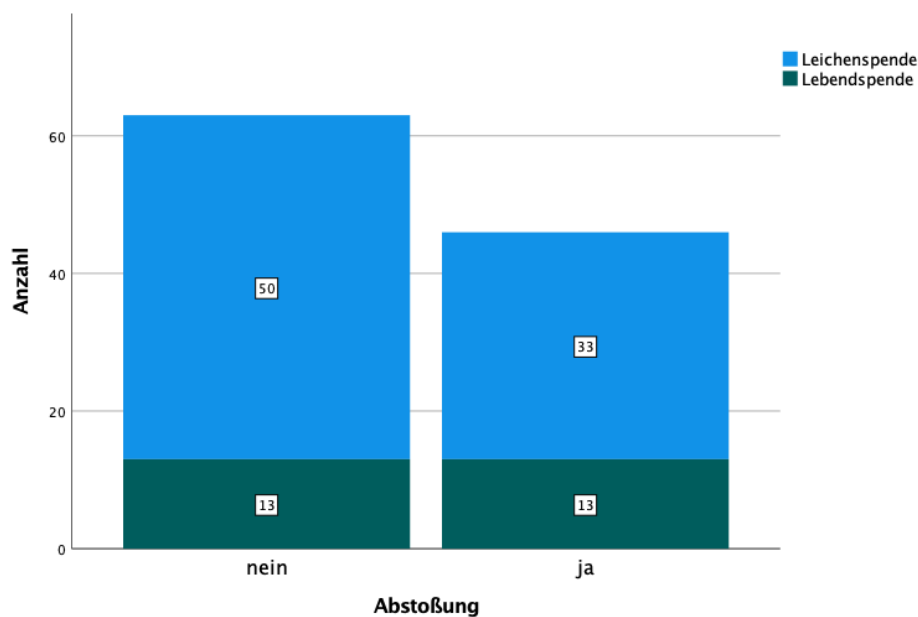


Abbildung 17: Anteil der Lebend- und Leichennierenspenden

Tabelle 32: Konzentration IL-34 Lebend- und Leichennierenspende

<b>Keine Abstoßung</b>								
$T_0$ IL-34 absolut pg/ml	cadaver	living	$T_1$ IL-34 relativ pg/ml	cadaver	living	$T_2$ IL-34 relativ pg/ml	cadaver	living
Anzahl	48	13	Anzahl	46	12	Anzahl	38	11
Median	49,12	40,91	Median	87,94	84,13	Median	90,47	89,79
p-Wert	0,408		p-Wert	0,409		p-Wert	0,701	
<b>Abstoßung</b>								
Anzahl	30	11	Anzahl	27	11	Anzahl	21	8
Median	68,60	229,56	Median	79,30	76,55	Median	73,99	59,15
p-Wert	0,303		p-Wert	0,859		p-Wert	0,582	

Tabelle 33: Konzentration CSF-1 Lebend- und Leichennierenspende

<b>Keine Abstoßung</b>								
T <sub>0</sub> CSF-1 absolut pg/ml	cadaver	living	T <sub>1</sub> CSF-1 relativ pg/ml	cadaver	living	T <sub>2</sub> CSF-1 relativ pg/ml	cadaver	living
Anzahl	44	11	Anzahl	31	6	Anzahl	19	5
Median	152,55	41,78	Median	52,59	26,31	Median	27,61	52,28
p-Wert	0,022		p-Wert	0,117		p-Wert	0,534	
<b>Abstoßung</b>								
Anzahl	29	10	Anzahl	23	6	Anzahl	16	2
Median	169,61	65,66	Median	69,98	65,45	Median	44,27	19,90
p-Wert	0,234		p-Wert	0,773		p-Wert	0,261	

### 7.4.3 HLA-Mismatch

Bezüglich dieser Einflussgröße konnte zu allen Zeitpunkten nach Transplantation sowohl für die IL-34 als auch für die CSF-1 Konzentration kein signifikanter Unterschied ausgemacht werden.

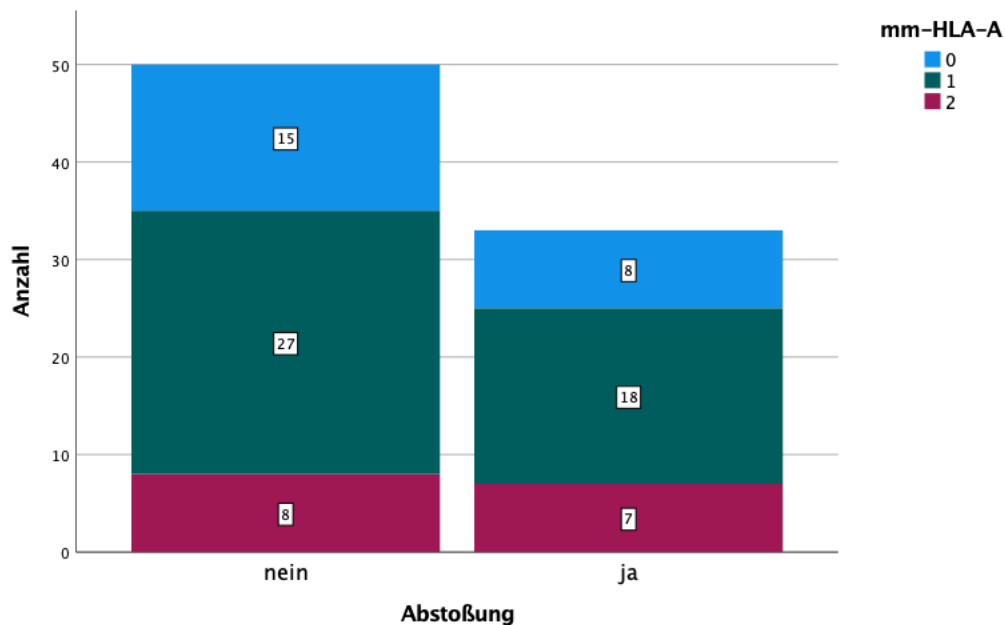


Abbildung 18: Anzahl HLA-A Mismatches

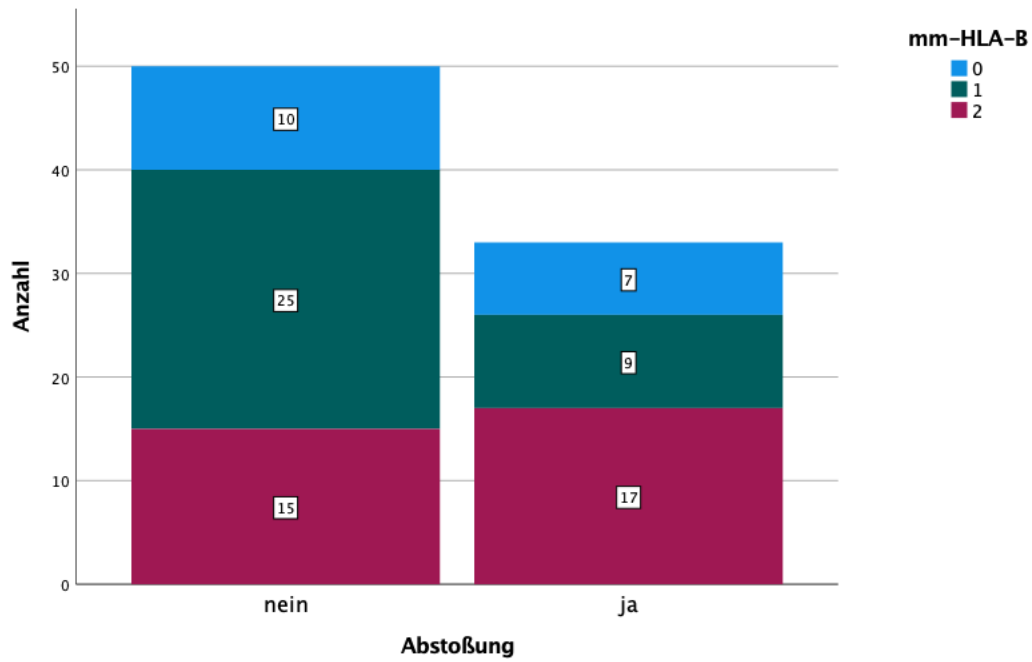


Abbildung 19: Anzahl HLA-B Mismatches

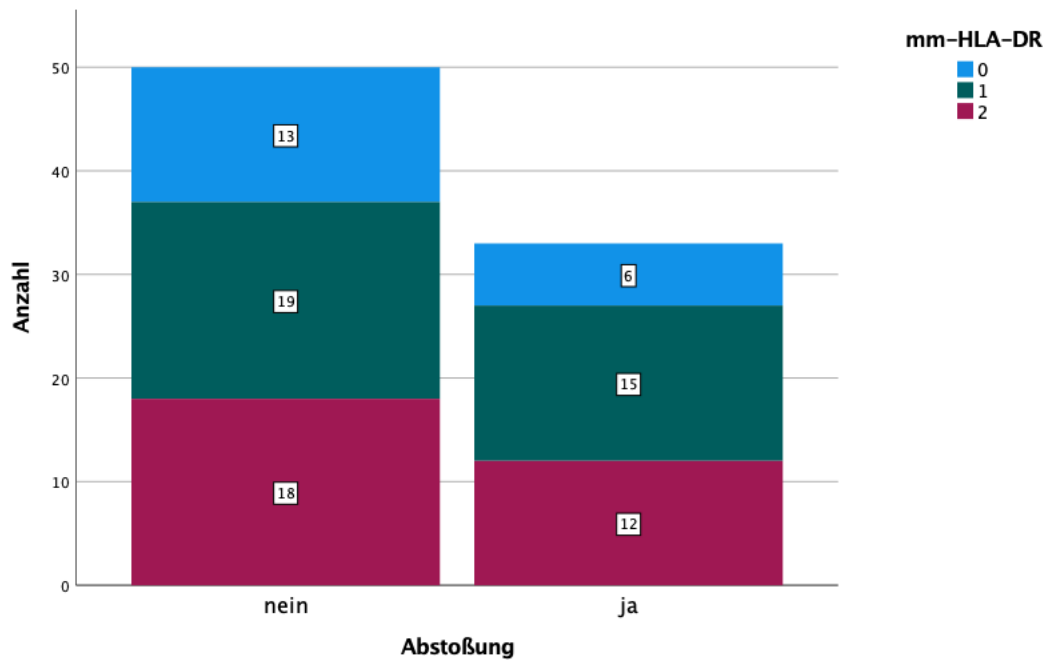


Abbildung 20: Anzahl HLA-DR Mismatches

## 7.5 Assoziation der Konzentration von IL-34 und CSF-1 mit einem klinischen Ereignis

### 7.5.1 Komplikationen

Während des gesamten Beobachtungszeitraums bestand weder für IL-34 noch für CSF-1 ein statistischer Zusammenhang mit dem Auftreten von folgenden Komplikationen: Lymphocele, Urinom, Harnstau, Nierenarterienstenose, Hämatom, Harnleiterstenose.

### 7.5.2 CMV-Virämie und BK-Virämie

Zu allen drei Messpunkten konnten keine Unterschiede der IL-34 oder CSF-1 Konzentrationen abhängig vom Auftreten einer CMV- oder BK-Virämie festgestellt werden.

Tabelle 34: Mann-Whitney-U-Test CMV-Virämie

	Teststatistiken <sup>a</sup>					
	T0 IL-34 [pg/ml]	T1 IL-34 relativ	T2 IL-34 relativ	T0 CSF-1 [pg/ml]	T1 CSF-1 relativ	T2 CSF-1 relativ
Mann-Whitney-U-Test	1134,500	1014,000	699,000	1005,000	487,000	214,000
Wilcoxon-W	3214,500	1644,000	1195,000	1671,000	1307,000	424,000
Z	-,349	-,278	-,301	-,166	-,433	-,151
Asymp. Sig. (2-seitig)	,727	,781	,763	,868	,665	,880

a. Gruppenvariable: CMV-Virämie

Tabelle 35: Mann-Whitney-U-Test BK-Virämie

	Teststatistiken <sup>a</sup>					
	T0 IL-34 [pg/ml]	T1 IL-34 relativ	T2 IL-34 relativ	T0 CSF-1 [pg/ml]	T1 CSF-1 relativ	T2 CSF-1 relativ
Mann-Whitney-U-Test	937,500	664,000	479,000	830,000	315,000	149,000
Wilcoxon-W	1288,500	3292,000	2132,000	3108,000	1443,000	215,000
Z	-,291	-1,425	-1,346	-,351	-1,862	-,615
Asymp. Sig. (2-seitig)	,771	,154	,178	,726	,063	,539
Exakte Sig. [2*(1-seitige Sig.)]						,553 <sup>b</sup>

a. Gruppenvariable: BK Virämie

b. Nicht für Bindungen korrigiert.

## 7.6 Serumkreatinin

Zu den Zeitpunkten T<sub>1</sub> und T<sub>2</sub> unterschied sich die Kreatininkonzentration zwischen den Patienten, die eine Abstoßung zeigten und denen die keine Abstoßung zeigten signifikant (siehe Tabelle 37).

Tabelle 36: Kreatininkonzentration im Serum ( $\mu\text{mol/l}$ ) zu verschiedenen Zeitpunkten

keine Abstoßung				Abstoßung					
		T0 Kreatinin	T1 Kreatinin	T2 Kreatinin			T0 Kreatinin	T1 Kreatinin	T2 Kreatinin
N	Gültig	58	57	53	N	Gültig	39	39	35
	Fehlend	5	6	10		Fehlend	7	7	11
Mittelwert		7,33	3,31	1,50	Mittelwert		6,74	4,23	1,98
Median		6,86	1,84	1,44	Median		6,40	3,19	1,74
Std.-Abweichung		2,842	2,825	,434	Std.-Abweichung		2,588	3,107	1,135
Minimum		1,94	,11	,69	Minimum		2,18	,96	,11
Maximum		13,34	14,63	2,39	Maximum		14,03	12,56	6,13

Tabelle 37: Mann-Whitney-U-Test Kreatinin

Teststatistiken <sup>a</sup>			
	T0 Kreatinin	T1 Kreatinin	T2 Kreatinin
Mann-Whitney-U-Test	986,50	836,50	659,50
Wilcoxon-W	1766,50	2489,50	2090,50
Z	-1,06	-2,05	-2,29
Asymp. Sig. (2-seitig)	,288	,040	,022

a. Gruppenvariable: Abstoßung

### 7.6.1 Korrelation von IL-34 und CSF-1 mit dem Serumkreatinin

Zwischen CSF-1 und dem Serumkreatinin konnte eine schwache positive Korrelation gezeigt werden (siehe Tabelle 39). Zwischen IL-34 und dem Serumkreatinin bestand zu keinem Zeitabschnitt eine signifikante Korrelation.

Tabelle 38: Korrelation IL-34 in pg/ml und Serumkreatinin

Korrelation IL-34 und Kreatinin	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
Anzahl	92	88	77
p-Wert	0,940	0,099	0,421
$\rho$	0,008	0,177	0,093

Tabelle 39: Korrelation CSF-1 in pg/ml und Serumkreatinin

Korrelation CSF-1 und Kreatinin	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
Anzahl	84	62	44
p-Wert	0,089	0,015	0,925
$\rho$	0,187	0,307	-0,015

## 7.7 Korrelation von IL-34 und CSF-1 mit Entzündungsparametern

In der Korrelationsanalyse nach Spearman zeigte sich eine nicht signifikante gegenseitige Korrelation zwischen IL-34 und dem CRP-Wert sowie den Leukozyten (siehe Tabelle 40, 41).

Tabelle 40: Korrelation IL-34 in pg/ml und CRP

Korrelation IL-34 und CRP	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
Anzahl	92	88	77
p-Wert	0,544	0,443	0,546
$\rho$	-0,064	-0,083	-0,070

Tabelle 41: Korrelation IL-34 in pg/ml und Leukozyten

Korrelation IL-34 und Leukozyten	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
Anzahl	91	86	77
p-Wert	0,830	0,916	0,416
$\rho$	-0,23	-0,12	-0,94

Zwischen CSF-1 und den Entzündungsparametern im Blut (CRP und Leukozyten) bestand zu allen Zeitabschnitten keine signifikante Korrelation (siehe Tabellen 42, 43).

Tabelle 42: Korrelation CSF-1 in pg/ml und CRP

Korrelation CSF-1 und CRP	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
Anzahl	84	62	44
p-Wert	0,570	0,765	0,842
$\rho$	-0,63	0,039	0,031

Tabelle 43: Korrelation CSF-1 in pg/ml und Leukozyten

Korrelation CSF-1 und Leukozyten	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
Anzahl	82	60	44
p-Wert	0,083	0,607	0,439
$\rho$	-0,192	-0,068	0,120

## 7.8 Regressionsanalyse

Zur Vervollständigung der Analyse wurde eine multiple Regressionsanalyse mit schrittweiser Variablenselektion zwischen einer Abstoßung innerhalb von 6 Monaten zum Zeitpunkt  $T_3$  und den Zytokinen CSF-1 und IL-34 sowie weiteren Parametern, wie etwa CRP und kalte Ischämiezeit, durchgeführt. Hier zeigte sich, dass an  $T_3$  sowohl CSF-1 ( $p = 0,031$ ) als auch CRP ( $p = 0,015$ ) und die kalte Ischämiezeit ( $p = 0,028$ ) unter Einbeziehung der Variablen CSF-1, Alter, Geschlecht des Empfängers, CRP, Wartezeit, kalte Ischämiezeit, warme Ischämiezeit und Mismatches eine schwache Assoziation auf das Auftreten einer Rejektion nach 6 Monaten zeigen ( $F(8,33) = 2,449$ ,  $p = 0,034$ ).

Ferner zeigte die multiple Regressionsanalyse, dass sowohl zum Zeitpunkt  $T_2$  als auch zum Zeitpunkt  $T_3$  CSF-1 ( $T_2 p = 0,023$  vs.  $T_3 p = 0,024$ ) und die kalte Ischämiezeit ( $T_2 p = 0,015$  vs.  $T_3 p = 0,024$ ) eine schwache Assoziation hinsichtlich der Einteilung einer Abstoßung zu BANFF1 und BANFF 2 zeigen ( $T_2: F(8,40) = 2,326$ ,  $p = 0,037$  vs.  $T_3: F(8,33) = 1,926$ ,  $p = 0,089$ ).

Sowohl zum Zeitpunkt  $T_2$  als auch zum Zeitpunkt  $T_3$  weist IL-34 unter Einbeziehung der Variablen Alter, Geschlecht des Empfängers, CRP, Wartezeit, kalte Ischämiezeit, warme Ischämiezeit und Mismatches eine Assoziation ( $T_2 p = 0,018$  vs.  $T_3 p = 0,024$ ) zum Auftreten einer Abstoßung nach BANFF1 oder BANFF2 auf ( $T_2: F(8,41) = 2,53$ ,  $p = 0,043$  vs.  $T_3: F(8,35) = 1,909$ ,  $p = 0,090$ ).



## **8 Diskussion**

### **8.1 Patientenkollektiv**

Für die vorliegende Arbeit wurde prospektiv eine Kohorte mit  $n = 109$  Patienten untersucht, die zwischen 2014 und 2019 eine Nierentransplantation an der Universitätsmedizin Mainz erhielten. Eine akute Abstoßungsreaktion lag bei  $n = 46$  Patienten vor. Einerseits ist die Kohortenstärke in der Anzahl der Nierentransplantationen an der Universitätsmedizin Mainz begründet, welche bei etwa 40 Nierentransplantationen im Jahr liegt. Andererseits ist zu bedenken, dass es sich um ein monozentrisches Kollektiv handelt. Die Erfassung der Patientendaten erfolgte retrospektiv. Die retrospektive Datenerhebung kann Einfluss auf die Datendichte nehmen und schlussendlich deren Homogenität und Vergleichbarkeit erschweren. Beeinflusst wird die Datendichte pro Patient von mehreren Faktoren: der eingesetzten Labordiagnostik des behandelnden Arztes, der Güte der Dokumentation sowie der Archivierung des behandelnden Arztes. An der Universitätsmedizin Mainz ist die Niere das am häufigsten transplantierte Organ. Das entspricht den allgemeinen epidemiologischen Daten (7). Le Meur et al. untersuchten den Zusammenhang des Serum-CSF-1-Spiegels und einer akuten Abstoßungsreaktion an  $n = 114$  Nierentransplantatempfängern aus zwei spezialisierten Zentren (67). In der Studie von Baek et al. standen Messungen der IL-34-Konzentration während einer akuten Rejektion von insgesamt  $n = 17$  Patienten zur Verfügung. Das Patientenkollektiv in unserer Untersuchung war homogen in der Hinsicht, dass bei allen Patienten ein Zustand nach NTx mit einer immunsuppressiven Therapie vorlag. Unterschiede innerhalb des Patientenkollektivs gab es bezüglich der Grunderkrankung, Komorbiditäten, des Zeitpunkts der Transplantation, Alter und Geschlecht sowie der Art der Nierenspende (Lebendnierenspende vs. Leichennierenspende). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das Gesamtpatientenkollektiv repräsentativ für Nierentransplantatempfänger ist.

### **8.2 CSF-1- und IL-34-Konzentration vor Transplantation**

Sowohl für die IL-34 als auch für die CSF-1 Konzentration konnte zum Zeitpunkt  $T_0$  kein signifikanter Unterschied zwischen den Patienten, die im Verlauf eine Abstoßung zeigten und denen, die keine Abstoßung zeigten, festgestellt werden. Unmittelbar vor Transplantation waren die Mediane der IL-34 und CSF-1 Konzentrationen in beiden

Gruppen vergleichbar. Jedoch fielen individuelle Schwankungen der Zytokinkonzentrationen auf. Dabei zeigten Patienten, die eine vergleichbar hohe IL-34 Konzentration hatten, eine ebenfalls hohe CSF-1 Konzentration und andersherum. Die interindividuellen Schwankungen konnten mit den uns vorliegenden Daten nicht erklärt werden. Daher sollten die Zytokinkonzentrationen patientenindividuell betrachtet werden. Um dennoch eine Vergleichbarkeit der Konzentrationen zu ermöglichen, haben wir uns dazu entschieden, im weiteren Verlauf die statistischen Testungen mit relativen Konzentrationen durchzuführen. Allerdings könnte u.a. die breite Streuung ein Grund dafür sein, dass wir in unserer Studie wider Erwarten keinen signifikanten Anstieg der IL-34 und CSF-1 Konzentrationen während einer akuten Abstoßungsreaktion messen konnten (siehe ab 8.2.1).

### **8.2.1 Vergleich IL-34 Verlauf Abstoßung vs. keine Abstoßung**

Zurzeit existieren über das Zytokin IL-34 nur wenige Erkenntnisse. Erst im Jahr 2008 wurde IL-34 als weiterer Ligand des CSF-1-Rezeptors entdeckt (74). 2012 haben Wang et al. proximale Tubuluszellen der Niere als Expressionsort von IL-34 identifiziert (96). In transgenen Mausmodellen mit Lupusnephritis konnte kurz darauf u.a. eine erhöhte Expression von IL-34 gemessen werden (97). In Bezug auf akute Abstoßungsreaktionen nach NTx sind lediglich ansatzweise Daten über IL-34 vorhanden. Baek et al. untersuchten in transgenen Mäusen erstmals die Rolle von IL-34 bei der Entwicklung einer akuten und chronischen Niereninsuffizienz nach einer Nierenischämie. Im Rahmen der Ischämie kam es zu einer Entzündungsreaktion mit Makrophageninfiltration und anschließender Nierenschädigung. Die Forscher konnten auch beim Menschen eine erhöhte Expression von IL-34 in den Tubuluszellen und eine erhöhte Serum-IL-34-Konzentration feststellen. Außerdem beobachteten sie eine Anreicherung von Makrophagen während einer Entzündungsreaktion nach Nierenischämie in transplantierten Nieren (95). Die Ergebnisse der oben genannten Studien führen zu der Frage, wie sich die IL-34-Konzentration während einer akuten Nierenschädigung ändert. In unserer Studie sank die IL-34 Konzentration von T<sub>0</sub> zu T<sub>1</sub> signifikant in der Gruppe der Patienten, die im Verlauf keine Abstoßung zeigten, während sie zwischen T<sub>1</sub> und T<sub>2</sub> nahezu stabil blieb. Der signifikante Abfall der IL-34-Konzentration könnte im Zusammenhang mit der bereits während der Transplantation beginnenden immunsuppressiven Therapie stehen, welche die Zytokinproduktion hemmt. Bei initial hoher und im Verlauf anpassender Dosierung fällt die IL-34-Konzentration zunächst signifikant und pendelt sich dann auf einem stabilen Niveau

ein. In der Gruppe der Patienten, die im Verlauf eine Abstoßung zeigten, sank die IL-34 Konzentration über alle drei Messpunkte und zwischen T<sub>1</sub> und T<sub>2</sub> signifikant. Dies steht im Kontrast zu bisher durchgeführten Untersuchungen. Baek et al. zeigen in ihrer Studie erstmals, dass die Expression von IL-34 in TECs nach einem Ischämie-Reperfusionsschaden stark induziert wird. Darüber hinaus zeigen die Forscher, dass die Expression von u.a. IL-34 in transplantierten und abgestoßenen Nieren im Vergleich zu nicht transplantierten Spendernieren erhöht ist und mit fortschreitender Nierenschädigung ansteigt. Die IL-34-Serumspiegel spiegeln die intrarenale IL-34-Expression wider, da Serum- und TEC-abgeleitetes IL-34 mit dem Ausmaß der IL-34-Expression in abgestoßenen und transplantierten Nierentransplantaten korrelieren (95). In unserer Studie ereignete sich die Mehrzahl der Abstoßungen um den Zeitpunkt T<sub>1</sub>. Unmittelbar nachdem der Verdacht einer akuten Abstoßungsreaktion vorliegt, beginnt die Therapie mit hochdosierten Steroiden. Der damit einhergehende immunmodulierende Effekt könnte den erwarteten, in unserer Untersuchung allerdings ausbleibenden Anstieg der IL-34-Konzentration erklären.

Wir konnten für keinen Zeitraum Unterschiede der IL-34 Konzentration zwischen beiden Patientengruppen feststellen. Auch die Eingrenzung der Patienten (n = 13), von denen die IL-34 Konzentration innerhalb von 10 Tagen um die Abstoßung herum vorlagen, führte zu ähnlichen Ergebnissen. Dagegen haben Baek et al. in ihrer Studie einen Anstieg der IL-34 Serumkonzentration während der akuten Abstoßung feststellen können. Allerdings konnten keine Angaben gefunden werden, in welchem zeitlichen Zusammenhang die Bestimmung der IL-34 Konzentration und die akute Abstoßung zueinanderstanden. Außerdem ist der Stichprobenumfang deutlich geringer (Patienten mit Abstoßung n = 17 vs. n = 46 in unserer Studie) (95). Daher ist ein direkter Vergleich mit unserer Studie nicht möglich. Die Serumkonzentration von IL-34 während der akuten Abstoßung nach einer Lebertransplantation untersuchten San Segundo et al. in ihrer Studie. Sie haben die IL-34 Konzentration am Tag der Biopsie und damit am Tag der Diagnose der akuten Abstoßung gemessen und stellten eine signifikant höhere IL-34 Konzentration fest (98). Sowohl die Studie von Baek et al. als auch die Studie von San Segundo et al. unterstützen die Hypothese, dass IL-34 während der Immunsystemaktivierung, z.B. während der akuten Abstoßung, hochreguliert wird. Die Hypothese konnten unsere Ergebnisse, trotz Eingrenzung des Patientenkollektivs, nicht stützen. Die Ursache ist aus den vorliegenden Daten nicht

ersichtlich. Somit ist die eingangs formulierte Frage in Bezug auf IL-34 auch weiterhin offen.

### **8.2.2 Vergleich CSF-1 Verlauf Abstoßung vs. keine Abstoßung**

Als hämatopoetischer Wachstumsfaktor reguliert CSF-1 u.a. das Wachstum, die Differenzierung, Proliferation, Aktivierung, Rekrutierung und das Überleben von Monozyten und Makrophagen. In der Niere wird CSF-1 von Tubuluszellen, Mesangialzellen und Podozyten produziert (99-101). In ihrem transgenen Mausmodell haben Menke et al. gezeigt, dass CSF-1 die Reparatur in der Niere nach einer Ischämie fördert (81). Während die CSF-1-Konzentration im Serum gesunder Patienten stabil ist, berichten Le Meur et al. über einen erhöhten CSF-1-Spiegel bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz. Nach erfolgter Nierentransplantation nimmt die CSF-1-Konzentration innerhalb des ersten Monats ab (83). In unserer Studie sank die CSF-1 Konzentration von T<sub>0</sub> zu T<sub>2</sub> in beiden Untersuchungsgruppen. Sowohl in der Gruppe der Patienten, die keine Abstoßung im Verlauf zeigten, als auch in der Gruppe der Patienten, die eine Abstoßung zeigten, war der Abfall der CSF-1 Konzentration von T<sub>0</sub> zu T<sub>1</sub> signifikant. Damit bestätigen die eigenen Daten die Ergebnisse von Le Meur et al. Die Forscher haben ebenfalls mittels ELISA die CSF-1-Konzentration bei 114 Empfängern von Nierentransplantaten bestimmt. Im Gegensatz zu unserer Studie lag den Forschern damit eine höhere Fallzahl vor. Sie berichten ebenfalls über einen Abfall der CSF-1-Konzentration im ersten Monat nach erfolgreicher Nierentransplantation (67). Die immunsuppressiven Medikamente könnten eine Rolle bei der CSF-1 Konzentration spielen. Es ist bekannt, dass Cyclosporin die Expression von CSF-1 und dessen Produktion durch T-Zellen in vitro verändert (102). Eine andere Hypothese ist, dass bestimmte Zelltypen (Monozyten, Lymphozyten und Endothelzellen) durch das fehlregulierte Immunsystem im Rahmen der Urämie bei Patienten mit chronischem Nierenversagen angeregt werden (103). Diese Situation könnte durch eine Transplantation rückgängig gemacht werden.

In unserer Studie konnten wir keinen Unterschied der CSF-1 Konzentrationen zu den Zeitpunkten T<sub>1</sub> und T<sub>2</sub> zwischen den beiden Untersuchungsgruppen feststellen. Dagegen berichten Le Meur et al. über einen Anstieg der CSF-1-Konzentration um das 2 bis 5-Fache bei 20 von 25 Patienten während einer akuten Abstoßungsreaktion. Nach erfolgreicher Behandlung sank die CSF-1 Konzentration in der Studie von Le Meur et al. wieder auf subnormale Level (63). In unserer Studie wurde die

Zytokinkonzentration zu  $T_1$  ( $7 \pm 2d$  nach Tx) und  $T_2$  (3 Monate  $\pm$  2 Wochen nach Tx) zu fest definierten Zeiten bestimmt und damit nicht im direkten zeitlichen Zusammenhang zu einer potentiellen Abstoßung. Dagegen entnahmen die Forscher um Le Meur et al. ihren Patienten vor Transplantation, zweimal wöchentlich während des ersten Monates und einen Monat nach Transplantation Blutproben. Zwar ereigneten sich in unserer Studie die Mehrzahl der akuten Abstoßungen im Zeitraum von  $T_1$  und damit im Zusammenhang der Blutprobenentnahme. Der Anstieg von CSF-1 während einer akuten Rejektion erfolgt allerdings sehr schnell (über einige Tage), daher kann der ermittelte CSF-1-Spitzenwert falsch niedrig gewesen sein. Die höhere Frequenz der Blutentnahme von Le Meur et al. könnte sich hier als Vorteil erweisen. In unserer Studie zeigte auch eine Eingrenzung der Patienten ( $n = 8$ ), von denen die CSF-1 Konzentration innerhalb von 10 Tagen um die Abstoßung herum zur Verfügung standen ebenfalls, dass die CSF-1 Konzentrationen über alle Messpunkte sank. Dennoch könnte eine tägliche oder alternierende Probenentnahme die Empfindlichkeit der Methode erhöhen und muss in einer prospektiven Studie untersucht werden. Die von den vorliegenden Daten abweichenden älteren Befunde von Le Meur et al. aus dem Jahr 2004 wurden unter Verwendung einer im Jahr 1996 selbstentwickelten Sandwich-ELISA mit Hilfe eines polyklonalen Kaninchen-Anti-M-CSF-Antikörpers erhoben (82). Unsere Messungen dagegen erfolgten mit monoklonalen Antikörpern. Eine Vergleichbarkeit mit den hier vorliegenden eigenen Ergebnissen ist somit allenfalls mit Einschränkungen möglich.

### **8.2.3 Korrelation zwischen IL-34 und CSF-1**

IL-34 und CSF-1 binden beide an den gleichen Rezeptor: CSF-1-R. Das erklärt ihre teilweise überlappende Funktion bei der Förderung der Differenzierung und Proliferation sowie dem Überleben von u.a. Monozyten, Makrophagen und Osteoklasten (74). In einer in vitro Studie am Vollblut von Probanden beobachteten Eda et al., dass IL-34 und CSF-1 die Produktion von weiteren inflammatorischen Zytokinen und Chemokinen, wie u.a. IL-6 und MCP-1, fördern (104). Entsprechend haben IL-34 und CSF-1 einige gleichartige inflammatorische Funktionen. In unserer Studie korrelierten IL-34 und CSF-1 zu allen drei Messpunkten signifikant. Eine Einordnung dieser Ergebnisse ist nicht möglich, da aktuell keine vergleichbaren Studien existieren.

## **8.3 Assoziation verschiedener Einflussgrößen mit der Konzentration von IL-34 und CSF-1**

### **8.3.1 Geschlecht und Alter**

Eine verzögerte Transplantatfunktion (Delayed Graft Function, DGF) ist eine häufige Komplikation, die vielfach als Dialysebedarf in der ersten Woche nach der Transplantation definiert wird (17). Ischämie-Reperfusionsschäden und akute Abstoßungsreaktionen, die während der DGF-Periode auftreten, sind die beiden Hauptursachen für DGF und lassen sich nur schwer voneinander abgrenzen, da sie stark miteinander korrelieren (105). Sowohl das Alter der Empfänger zum Zeitpunkt der Transplantation als auch das Alter des Spenders sind bei der Entwicklung einer DGF von Bedeutung. In ihrem Artikel berichten Ouissi et al., dass das Spenderalter ein Risikofaktor für eine DGF ist (106). Das Risiko für eine DGF verdoppelt sich, wenn der Spender älter als 55 Jahre ist (107). In unserer Studie lag das Durchschnittsalter der männlichen Spender bei 51,49 Jahren und das der weiblichen Spender bei 56,27 Jahren. Ältere Empfänger von Nierentransplantationen haben im Vergleich zu jüngeren Empfängern einen höheren Anteil an Komplikationen und Mortalität (108). Die Hauptursache für Komplikationen stellen vor allem kardiovaskuläre Ereignisse dar. In unserer Studie lag das Durchschnittsalter der männlichen Transplantatempfänger bei 50,91 Jahren, das der weiblichen Transplantatempfänger bei 49,98 Jahren. Chaumont et al. berichten in ihrer Studie über einen weiteren Risikofaktor, der mit einer erhöhten Inzidenz für eine DGF vergesellschaftet ist. Sie berichten, dass männliche Transplantatempfänger ein höheres Risiko für die Entwicklung einer DGF aufweisen (109). Die geschlechtsspezifische Verteilung der Nierentransplantatempfänger aus unserer Studie deckt sich nahezu mit dem Bericht der Deutschen Stiftung Organtransplantation (DSO) aus dem Jahr 2018 (7). So setzte sich das Patientenkollektiv in unserer Studie zu 38 % aus Frauen und zu 62 % aus Männern zusammen. Etwa zwei Drittel der Patienten, die im Verlauf eine Abstoßung erlitten, waren Männer. Bisher gibt es keine Untersuchungen über den Einfluss des Geschlechts oder des Alters auf die IL-34- und CSF-1-Konzentration. In unserer Studie konnten wir weder für die IL-34- noch für die CSF-1-Konzentration geschlechtsabhängige Unterschiede identifizieren.

### **8.3.2 Art der Nierenspende**

Die Mehrheit der Literatur beschreibt den Verlauf bei Lebendnierentransplantationen als signifikant besser im Vergleich zur Leichennierentransplantation (110-112). In unserer Studie zeigten Empfänger einer Leichennierenspende bereits vor Transplantation eine signifikant höhere CSF-1 Konzentration als Empfänger einer Lebendnierenspende. Empfänger von Lebendspenden erhielten häufiger eine ABO-inkompatible Transplantation als Empfänger von Leichennierenspenden. Die bereits vor Transplantation starke Immunsuppression mittels Plasmapheresen und Immunabsorptionen könnte den Unterschied der CSF-1 Konzentration zu  $T_0$  teilweise erklären. Auch über  $T_1$  und  $T_2$  hatten Empfänger einer Leichennierenspende eine höhere CSF-1 Konzentration unabhängig davon, ob sie eine Abstoßung erlitten oder nicht. Die höhere CSF-1 Konzentration nach Transplantation könnte Ursache der verlängerten Ischämiezeiten sein und der nach Reperfusion der Niere folgenden Aktivierung des Immunsystems (77) (113) (114). Bisher existieren keine Studien, die einen möglichen Zusammenhang zwischen IL-34 und der Art der Nierenspende untersuchen. Die Art der Nierenspende hatte in unserer Studie keinen Einfluss auf die IL-34-Konzentration.

### **8.3.3 HLA-Mismatch**

Die HLA-Kompatibilität hat einen wichtigen Einfluss auf das Transplantatüberleben. Vor Einführung neuer Immunsuppressiva wie MMF und ATG Anfang der 1990er Jahre war das HLA-Mismatch ein wichtiger Risikofaktor für den Transplantatverlust (115-117). Sowohl bei Lebendnierenspenden als auch bei Leichennierenspenden steigt die Anzahl der Organversagen mit zunehmender HLA-Inkompatibilität (118). Chaumont et al. konnten eine Korrelation der HLA-Übereinstimmung mit dem Auftreten einer akuten Abstoßungsreaktion zeigen (109).

Weder für die IL-34- noch für die CSF-1 Konzentrationen zu den verschiedenen Messpunkten konnte für die Einflussgröße HLA-Mismatch ein signifikanter Unterschied gezeigt werden. Somit konnten wir in unserer Studie keine modifizierte Immunantwort abhängig von der Anzahl der HLA-Mismatches beobachten. Derzeit gibt es keine Studien, die die IL-34 oder CSF-1 Konzentration in Abhängigkeit der HLA-Mismatches untersuchen. Unsere Ergebnisse sprechen dafür, dass eine HLA-Diskrepanz eine untergeordnete Rolle spielt und keine Auswirkungen auf die IL-34 und CSF-1

Konzentration hat. Allerdings wäre für zukünftige Studien eine genauere Betrachtung der einzelnen HLA-Loci sowie die genaue Anzahl der HLA-Mismatches zu empfehlen.

## **8.4 Assoziation der Konzentration von IL-34 und CSF-1 mit einem klinischen Ereignis**

### **8.4.1 CMV-Virämie und BK-Virämie**

Le Meur et al. berichten über vorübergehend hohe CSF-1-Serumspiegel bei CMV-Erkrankungen. Eine Nierenfunktionsstörung lag bei diesen Patienten nicht vor, wie ihre normalen Kreatininwerte und Clearance zeigen (63). In unserer Studie dagegen konnten wir keine Änderung der CSF-1-Konzentration im Rahmen einer CMV-Virämie feststellen. Untersuchungen der CSF-1-Konzentration im Rahmen einer BK-Virämie existieren derzeit nicht. Wir haben keinen Anstieg der CSF-1-Konzentration während einer BK-Virämie feststellen können. Bisher wurde in keiner Studie ein Zusammenhang der IL-34 Konzentration im Serum mit posttransplantationären Infektionen beschrieben. In unsere Studie konnten wir keinen Unterschied der IL-34-Konzentration abhängig vom Auftreten einer BK-Virämie feststellen.

Jackson et al. haben in ihrer Arbeit die Konzentration eines anderen Biomarkers im Urin untersucht. Sie konnten eine erhöhte Konzentration von IP-10 im Urin – in den ersten sechs Monaten nach Transplantation – mit einem erhöhten Risiko assoziieren, an einer Polyomavirus-Nephropathie zu erkranken (119).

## **8.5 Korrelation von IL-34 und CSF-1 mit dem Serumkreatinin**

Das Immunmanagement nach der Transplantation erfordert die Navigation zwischen Unter- und Überimmunsuppression, um eine Abstoßung bzw. Infektion zu vermeiden. Der Therapieverlauf richtet sich nach der funktionellen Überwachung der Patienten durch Urinanalyse und Bestimmung des Serumkreatinins. Das Serumkreatinin ist ein wichtiger Parameter für ein Rejektionsgeschehen nach erfolgter Nierentransplantation (120). Die Messung des Serumkreatinins kann schnell und preisgünstig erfolgen. Allerdings muss Kreatinin vorsichtig interpretiert werden, da verschiedene Umstände einen Einfluss auf die Kinetik des Kreatininspiegels haben können, ohne dass sich die GFR ändert. Ein Anstieg des Spiegels ist häufig erst mit einiger Latenz zu beobachten und folgt erst bei einer Funktionseinschränkung der Niere von > 50% (57). Daher ist die Suche nach anderen Markern zur Einschätzung und Überwachung der Nierenfunktion Gegenstand aktueller Forschungen.



1996 untersuchten Le Meur et al. in ihrer Studie an 142 Patienten den Einfluss von CSF-1 auf CKD. Sie zeigten, dass die CSF-1-Konzentration nicht mit der Kreatinin-Clearance korrelierte (83). CSF-1 wird aufgrund seines molekularen Gewichts (85 kDa) unabhängig von der renalen Funktion metabolisiert. Außerdem wird CSF-1 von Leber- und Milzmakrophagen innerhalb von 10 Minuten zu inaktiven Metaboliten abgebaut (121, 122). Die Forscher schlussfolgerten, dass CSF-1, welches im Urin nachweisbar ist, hauptsächlich im Harntrakt produziert wird und dass die hohe CSF-1-Serumkonzentration bei Patienten mit CKD Folge der Stoffwechseleränderung im Rahmen der Urämie sei. 2004 reproduzierten Le Meur et. al ihre Ergebnisse in einer Studie an 114 Nierentransplantatempfängern. Erneut konnte keine Korrelation zwischen dem CSF-1-Serumspiegel und der Kreatinin-Clearance gezeigt werden (67). In unserer Studie korrelierten CSF-1 und Serumkreatinin schwach positiv zum Zeitpunkt T<sub>1</sub>. Ungeklärt ist, ob eine verminderte renale Funktion, z.B. während einer akuten Abstoßung, zu einer Akkumulation von CSF-1 führt oder ob eine erhöhte Konzentration von CSF-1 zu einer Funktionsverschlechterung der Niere führt. Es wäre interessant in weiteren Studien zu untersuchen, ob die CSF-1 Konzentration nach einer Rejektionstherapie schneller fällt als die Kreatininkonzentration im Serum, sodass sich bessere Voraussetzungen für ein Monitoring mit diesem Biomarker ergeben würden.

Baek et al. haben in ihrer Arbeit einen Anstieg sowohl der IL-34 Expression in der Niere als auch der IL-34 Konzentration im Serum nach einer Ischämie zeigen können (91). In unserer Studie bestand keine Korrelation zwischen IL-34 und dem Serumkreatinin. Die Übertragung der Ergebnisse von Baek et al. auf transplantierte Nieren, die eine Abstoßung zeigen, gelang somit nicht in unserer Studie.

### **8.5.1 Korrelation von IL-34 und CSF-1 mit Entzündungsparametern**

Bisher gibt es kaum Studien, die die IL-34-Konzentration in Bezug auf AKI, CKD oder NTx untersuchen. Dagegen haben jüngste Studien gezeigt, dass IL-34 eine wichtige Rolle bei der Pathogenese chronischer Entzündungen wie der rheumatoiden Arthritis oder dem Systemischen Lupus Erythematoses (SLE) spielt (123-125). Wang et al. untersuchten in ihrer Querschnittstudie erstmals den Zusammenhang der IL-34-Serumkonzentration und der SLE-Krankheitsaktivität. Zum einen zeigten sie, dass SLE-Patienten eine signifikant höhere IL-34-Konzentration als die gesunde Kontrollgruppe hatten. Zum anderen konnten sie u.a. eine Korrelation zwischen IL-34

und CRP nachweisen (126). Moon et al. untersuchten in ihrer Studie die Konzentration von IL-34 im Serum und Synovialflüssigkeit von Patienten mit rheumatoider Arthritis. Sie konnten keine Korrelation zwischen der IL-34 Konzentration im Serum und dem CRP als Entzündungsmarker feststellen (127). Allerdings beruht die Pathologie der rheumatoiden Arthritis vor allem auf Knochenerosionen, Verengungen des Gelenkspaltes und lokalen Entzündungsreaktionen. Daher wurde eine Korrelationsanalyse bei Patienten in einem frühen Stadium der rheumatoiden Arthritis (Krankheitsdauer < 6 Monate), bei denen das lokale Entzündungsgeschehen noch nicht weit fortgeschritten ist, wiederholt. Auch in dieser Gruppe konnte keine Korrelation zwischen der IL-34 Serumkonzentration und CRP festgestellt werden (97). Bei den Patienten, welche im Rahmen unserer Arbeit untersucht wurden, konnte keine Korrelation zwischen IL-34 und den Entzündungsparametern CRP und Leukozyten festgestellt werden.

Das Zytokin CSF-1 ist nicht nur als Wachstumsfaktor in seiner Wirkung auf hämatopoetische Zellen begrenzt. Studien haben ergeben, dass CSF-1 auch eine große Rolle bei der Immunantwort spielt. So fördern sowohl CSF-1 als auch IL-34 die Freisetzung bspw. von MCP-1 und IL-6 (104). IL-6 wiederum fördert die Produktion von CRP, das eine direkte proinflammatorische Wirkung hat (128). Zwischen der CSF-1 Konzentration und der Leukozytenkonzentration und dem CRP konnte in unserer Studie keine Korrelation festgestellt werden.

## **8.6 Regressionsanalyse**

In der Regressionsanalyse zeigte sich sowohl eine Assoziation zwischen einer Abstoßung innerhalb von 6 Monaten zum Zeitpunkt von T<sub>3</sub> und den Variablen CSF-1, CRP und kalte Ischämiezeit als auch eine schwache Assoziation zwischen CSF-1, IL-34 und der kalten Ischämiezeit zum Zeitpunkt T<sub>2</sub> und T<sub>3</sub> hinsichtlich der Einteilung einer Abstoßung nach BANFF1 und BANFF2. Inwieweit CSF-1 und IL-34 unabhängige Prädiktoren für eine Nierentransplantatabstoßung sind, muss in einer Folgestudie evaluiert werden. Um diese Assoziationen genauer zu untersuchen, müsste zum einen mit genaueren Zeitpunkten und häufigeren Blutabnahmen gearbeitet werden und zum anderen Wert auf eine prospektive Datenerfassung gelegt werden, v.a. der Tag der Biopsie bzw. Erhöhung der Immunsuppression, um aussagekräftige Daten zu erhalten.

## 8.7 Limitationen dieser Studie

Eine Einschränkung dieser prospektiven Studie ist die relativ niedrige Zahl an Patienten, welche eine Abstoßung zeigten ( $n = 46$ ). Eine Vergrößerung der Studienpopulation durch Bildung eines multizentrischen Studiendesigns könnte die Untersuchung optimieren. Des Weiteren zeigt der Datensatz Schwächen auf, da dieser nicht für alle Patienten vollständig war und nicht für alle drei Zeitpunkte sowohl die IL-34 Konzentration als auch die CSF-1 Konzentration vorlagen. Die Vollständigkeit und Qualität der Datenerhebung ist daher kritisch zu hinterfragen. Zudem wurde zu fest definierten Zeitpunkten ( $T_0$ ,  $T_1$ ,  $T_2$ ) die Zytokinkonzentration bestimmt. Die Mehrheit der Abstoßungen fand zwar um den Zeitpunkt  $T_1$  statt. Dennoch könnte eine häufigere Bestimmung der Zytokinkonzentration (z.B. täglich oder alle zwei Tage) genauere Ergebnisse und mögliche Korrelationen zeigen. Zu beachten ist auch, dass eine akute Abstoßungsreaktion initial meist mit einer hochdosierten Steroidstoßtherapie behandelt wird. Es lagen keine genauen Angaben zum Zeitpunkt der Steroidstoßtherapie und des zeitlichen Zusammenhangs zu  $T_1$  vor. Allerdings können Steroide einen Einfluss auf die Zytokinkonzentration haben, sodass die Messung vor Steroidgabe erfolgen sollte. Als weitere mögliche Fehlerquellen kommen die Probenentnahme und laboratorische Probenbestimmung in Frage.

Zu betonen ist auch, dass die Methoden für die Biomarkermessung häufig nicht standardisiert sind, sodass Laboratorien verschiedene Ergebnisse liefern können. Ein Vergleich mit anderen Studien ist nicht möglich, da zurzeit keine standardisierten und einheitlichen Richtwerte in der medizinischen Literatur vorliegen. So führt eine große Heterogenität der verschiedenen Messmethoden zu einer großen Variabilität der gemessenen Konzentrationsunterschiede von IL-34 und CSF-1. Dadurch ist der Vergleich mit anderen Studien und in anderen Zusammenhängen schwierig. Außerdem waren infolge der niedrigen Zytokinkonzentrationen in den Blutproben für mehrere Proben keine messbaren Werte mit den ELISA Kits detektierbar.

## 9 Zusammenfassung

Mit einer 1-Jahres-Überlebensrate einer transplantierten Niere von etwa 90% und einer durchschnittlichen Halbwertszeit von 10 Jahren stellt die Verbesserung des langfristigen Transplantatüberlebens ein wichtiges Therapieziel nierentransplantierten Patienten dar. Neben Einflussfaktoren, auf die man nur gering einwirken kann, ist die Aktivierung immunologischer Zellen des Empfängers gegen das Transplantat der Hauptgrund für ein spätes Transplantatversagen und ist damit ein wichtiger Angriffspunkt, das Transplantatüberleben zu verlängern. Jedoch kann die lange postoperative Immunsuppression negative Einflüsse auf das Transplantatüberleben haben. Während immunsuppressive Medikamente mit weniger Nebenwirkungen noch entwickelt werden müssen, könnte ein besseres Monitoring der Immunsuppression – abhängig vom immunologischen Status des Patienten – eine Verringerung der Dosis immunsuppressiver Medikamente ermöglichen und zeitgleich eine Aktivierung des Immunsystems des Empfängers dämpfen und schließlich eine Verbesserung des Transplantatüberlebens fördern. Bisher stehen in der Klinik aber noch keine Biomarker zur Verfügung, die ein derart personalisiertes Patientenmonitoring garantieren und eine Abstoßung sicher voraussagen könnten. Derzeit wird von einer Transplantatabstoßung ausgegangen, wenn eine Organdysfunktion vorliegt, einhergehend mit einem erhöhten Serumkreatininspiegel und einer Proteinurie. Die zur Validierung der Abstoßungsreaktion durchgeführte Biopsie kann als invasiver Eingriff weitere Komplikationen mit sich führen. Daher ist die Suche nach Biomarkern, die valide, schnell, genau, kostengünstig und nichtinvasiv frühzeitig eine Abstoßung anzeigen und den Immunstatus des Empfängers beurteilen, Bestandteil aktueller Forschungen in der Transplantationsmedizin.

In dieser Dissertation habe ich die Rolle von CSF-1 und IL-34 als potentielle Biomarker nierentransplantierten Patienten hinsichtlich einer Transplantatabstoßung untersucht. Einige Studien und Vorarbeiten belegen den Zusammenhang zwischen CSF-1 und einer Transplantatabstoßung, während für IL-34 noch wenige Erkenntnisse vorliegen. Angesichts der vorhandenen Literatur stellte sich die Frage, ob diese Zytokine als Biomarker geeignet sind, eine Transplantatabstoßung schnell, genau und nichtinvasiv anzuzeigen. In der vorliegenden prospektiven Studie mit 109 Patienten wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen den Konzentrationen von IL-34 und CSF-1 im Serum und einer akuten Abstoßungsreaktion bestand. Der Beobachtungszeitraum wurde in drei Intervalle aufgeteilt. Die vorliegenden klinischen

Messungen von IL-34 und CSF-1 haben die positiven Ergebnisse anderer Studien nicht bestätigt. Es konnte nicht abschließend beantwortet werden, inwieweit die IL-34 und CSF-1 Konzentrationen aussagekräftige und zuverlässige Biomarker für das Monitoring einer Immunaktivierung nach einer Nierentransplantation darstellen könnten. Dennoch liefern die Ergebnisse einen wichtigen Erkenntnisgewinn. Denn sie zeigen deutlich die dringende Notwendigkeit auf, sich eingehend auf potentielle Biomarker zu fokussieren, welche eine akute Abstoßungsreaktion anzeigen.

## Literaturverzeichnis

1. Oniscu GC, Brown H, Forsythe JL. Impact of cadaveric renal transplantation on survival in patients listed for transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(6):1859-65.
2. 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;341(23):1725-30.
3. Watts G. Joseph Murray: innovative surgeon and pioneer of transplantation. *Lancet.* 2011;377(9770):987.
4. Enke U. Georg Haas: Pionier der Hämodialyse. *Deutsches Ärzteblatt.* 2007.
5. Bundesausschuss G. Beschluss des Gemeinsamen Bundesausschusses über die Veröffentlichung des Jahresberichts 2018 zur Qualität der Dialyse. 2019, Berlin.
6. Dausset J. The challenge of the early days of human histocompatibility. *Immunogenetics.* 1980;10(1):1-5.
7. Deutsche Stiftung Organtransplantation (DSO) (2019) Nierentransplantation [Available from: <https://dso.de/SiteCollectionDocuments/DSO-Jahresbericht%202019.pdf#search=nierentransplantation>].
8. Die Nephrologen [Available from: <http://www.die-nephrologen.de/nieren-nierenerkrankungen-und-nierenpatienten.html>].
9. Kunzendorf U, Renders L, Ziegler E. Chronische Niereninsuffizienz und Transplantation. *Der Internist.* 2007;48(8):804-12.
10. Keller CK GS. Praxis der Nephrologie. Heidelberg: Springer-Verlag. 2010;3rd ed.
11. Herold G. Innere Medizin 2020. Berlin, Boston: De Gruyter; 2020.
12. Richtlinien für die Wartelistenführung und die Organvermittlung zur Nierentransplantation gem. § 16 Abs. 1 S. 1 Nrn. 2 u. 5 TPG, (9.12.2013).
13. Opelz G, Wujciak T, Döhler B. Is HLA matching worth the effort? Collaborative Transplant Study. *Transplant Proc.* 1999;31(1-2):717-20.
14. Heemann U, Renders L. Nierenallokation in Deutschland. *Der Nephrologe.* 2018;13(5):355-65.
15. Ojo AO, Wolfe RA, Held PJ, Port FK, Schmouder RL. Delayed graft function: risk factors and implications for renal allograft survival. *Transplantation.* 1997;63(7):968-74.
16. Siedlecki A, Irish W, Brennan DC. Delayed graft function in the kidney transplant. *Am J Transplant.* 2011;11(11):2279-96.
17. Yarlaga S, Coca SG, Garg AX, Doshi M, Poggio E, Marcus RJ, et al. Marked variation in the definition and diagnosis of delayed graft function: a systematic review. *Nephrol Dial Transplant.* 2008;23(9):2995-3003.
18. Perico N, Cattaneo D, Sayegh MH, Remuzzi G. Delayed graft function in kidney transplantation. *The Lancet.* 2004;364(9447):1814-27.
19. Perico N, Cattaneo D, Sayegh MH, Remuzzi G. Delayed graft function in kidney transplantation. *Lancet.* 2004;364(9447):1814-27.
20. Nankivell BJ, Alexander SI. Rejection of the kidney allograft. *N Engl J Med.* 2010;363(15):1451-62.
21. Siewert JR, Stein HJ. Chirurgie : mit integriertem Fallquiz - 40 Fälle nach neuer AO. Springer-Lehrbuch. 9th ed. 2012 ed. Berlin, Heidelberg2012.
22. Bröker B, Schütt C, Fleischer B. Grundwissen Immunologie. 4th ed. 2019 ed. Berlin, Heidelberg2019.
23. Clark B, Unsworth DJ. HLA and kidney transplantation. *J Clin Pathol.* 2010;63(1):21-5.
24. Opelz G, Döhler B. Effect of human leukocyte antigen compatibility on kidney graft survival: comparative analysis of two decades. *Transplantation.* 2007;84(2):137-43.
25. Sommerer C, Schmidt J, Zeier M. Differentialdiagnose des akuten Nierenversagens nach Nierentransplantation. *Intensivmedizin + Notfallmedizin.* 2005;42(3):241-9.

26. Mühlfeld A. Nierentransplantation: Rejektion. In: Lehnert H, Schellong SM, Mössner J, Sieber CC, Swoboda W, Neubauer A, et al., editors. DGIM Innere Medizin: herausgegeben von Hendrik Lehnert. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2015. p. 1-7.
27. Racusen LC, Solez K, Colvin RB, Bonsib SM, Castro MC, Cavallo T, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int.* 1999;55(2):713-23.
28. Weidemann A, Büttner M, Amann K, Wiesener M. BANFF-Klassifikation der Histologie von Nierentransplantaten und therapeutische Konsequenzen. *Der Nephrologe.* 2015;10(2):113-23.
29. Jalalzadeh M, Mousavinasab N, Peyrovi S, Ghadiani MH. The impact of acute rejection in kidney transplantation on long-term allograft and patient outcome. *Nephrourol Mon.* 2015;7(1):e24439.
30. Harada KM, Mandia-Sampaio EL, de Sandes-Freitas TV, Felipe CR, Park SI, Pinheiro-Machado PG, et al. Risk factors associated with graft loss and patient survival after kidney transplantation. *Transplant Proc.* 2009;41(9):3667-70.
31. Webster AC, Ruster LP, McGee RG, Matheson SL, Higgins GY, Willis NS, et al. Interleukin 2 receptor antagonists for kidney transplant recipients. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2010(1).
32. Brennan DC, Daller JA, Lake KD, Cibrik D, Del Castillo D. Rabbit antithymocyte globulin versus basiliximab in renal transplantation. *N Engl J Med.* 2006;355(19):1967-77.
33. Kidney Disease: Improving Global Outcomes Transplant Work G. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* 2009;9 Suppl 3:S1-155.
34. Pirsch JD, Miller J, Deierhoi MH, Vincenti F, Filo RS. A comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression after cadaveric renal transplantation. FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation.* 1997;63(7):977-83.
35. Webster AC, Woodroffe RC, Taylor RS, Chapman JR, Craig JC. Tacrolimus versus ciclosporin as primary immunosuppression for kidney transplant recipients: meta-analysis and meta-regression of randomised trial data. *Bmj.* 2005;331(7520):810.
36. Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, Vitko S, Nashan B, Gürkan A, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med.* 2007;357(25):2562-75.
37. Sollinger HW. Mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal allograft recipients. U.S. Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group. *Transplantation.* 1995;60(3):225-32.
38. Frimat L, Cassuto-Viguier E, Charpentier B, Noël C, Provôt F, Rostaing L, et al. Impact of cyclosporine reduction with MMF: a randomized trial in chronic allograft dysfunction. The 'reference' study. *Am J Transplant.* 2006;6(11):2725-34.
39. Miller J, Mendez R, Pirsch JD, Jensik SC. Safety and efficacy of tacrolimus in combination with mycophenolate mofetil (MMF) in cadaveric renal transplant recipients. FK506/MMF Dose-Ranging Kidney Transplant Study Group. *Transplantation.* 2000;69(5):875-80.
40. Türk TR, Witzke O, Zeier M. KDIGO-Leitlinien zur Betreuung von Nierentransplantatempfängern. *Der Nephrologe.* 2010;5(2):94-107.
41. Tedesco-Silva H, Pascual J, Viklicky O, Basic-Jukic N, Cassuto E, Kim DY, et al. Safety of Everolimus With Reduced Calcineurin Inhibitor Exposure in De Novo Kidney Transplants: An Analysis From the Randomized TRANSFORM Study. *Transplantation.* 2019;103(9):1953-63.
42. Budde K, Lehner F, Sommerer C, Reinke P, Arns W, Eisenberger U, et al. Five-year outcomes in kidney transplant patients converted from cyclosporine to everolimus: the randomized ZEUS study. *Am J Transplant.* 2015;15(1):119-28.
43. Feldkamp T, Linkermann A. Immunsuppressive Therapie nach Nierentransplantation. *Der Nephrologe.* 2013;8(3):217-25.

44. 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;377(9768):837-47.
45. 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;9(5):1115-23.
46. Mourad G, Vela C, Ribstein J, Mimran A. Long-term improvement in renal function after cyclosporine reduction in renal transplant recipients with histologically proven chronic cyclosporine nephropathy. *Transplantation*. 1998;65(5):661-7.
47. Lelios I, Cansever D, Utz SG, Mildenerberger W, Stifter SA, Greter M. Emerging roles of IL-34 in health and disease. *J Exp Med*. 2020;217(3).
48. 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(24):2326-33.
49. 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;12(3):630-9.
50. 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;12(1):210-7.
51. Reinold J, Rohn H, Witzke O, Feldkamp T. Vermeidung und Behandlung von T-Zell- und antikörpervermittelter Abstoßung. *Der Nephrologe*. 2018;13(3):154-60.
52. Roberts DM, Jiang SH, Chadban SJ. The treatment of acute antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients-a systematic review. *Transplantation*. 2012;94(8):775-83.
53. Wan SS, Ying TD, Wyburn K, Roberts DM, Wyld M, Chadban SJ. The Treatment of Antibody-Mediated Rejection in Kidney Transplantation: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *Transplantation*. 2018;102(4):557-68.
54. A. Grambihler MS, J. Thies, G. Otto. *Lertransplantations-Leitfaden Leitlinien zum Management lebertransplantierte Patienten für Hausärzte und niedergelassene Internisten Mainz: KLINIK FÜR LEBER-, GALLENWEGS-, PANKREAS- UND TRANSPLANTATIONSCHIRURGIE I. MEDIZINISCHE KLINIK DER UNIVERSITÄT MAINZ; 2007 [updated 2007; cited 2021 19.02.2021]. Available from: <https://www.unimedizin-mainz.de/1-med/klinische-partner/interdisziplinaeres-hepatologisches-zentrum/lebertransplantations-leitfaden.html>.*
55. Pasala S, Carmody JB. How to use... serum creatinine, cystatin C and GFR. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2017;102(1):37-43.
56. Labor und Diagnose Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik : 1. In: Thomas L, editor. 8. Aufl. ed. Frankfurt/Main2012.
57. Lameire N, Hoste E. Reflections on the definition, classification, and diagnostic evaluation of acute renal failure. *Curr Opin Crit Care*. 2004;10(6):468-75.
58. Wilczek HE. Percutaneous needle biopsy of the renal allograft. A clinical safety evaluation of 1129 biopsies. *Transplantation*. 1990;50(5):790-7.
59. Dharnidharka VR, Malone A. Biomarkers to detect rejection after kidney transplantation. *Pediatr Nephrol*. 2018;33(7):1113-22.
60. Definition der Biomarker des National Institute of Environmental Health Sciences [cited 2021 21.01]. Available from: <https://www.niehs.nih.gov/health/topics/science/biomarkers>.
61. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS*. 2010;5(6):463-6.
62. Menon MC, Murphy B, Heeger PS. Moving Biomarkers toward Clinical Implementation in Kidney Transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(3):735-47.



63. Pandit J, Bohm A, Jancarik J, Halenbeck R, Koths K, Kim SH. Three-dimensional structure of dimeric human recombinant macrophage colony-stimulating factor. *Science*. 1992;258(5086):1358-62.
64. Menke J. Makrophagenspezifischer Wachstumsfaktor (CSF-1). *Der Nephrologe*. 2012;7(5):428-30.
65. Fixe P, Praloran V. M-CSF: haematopoietic growth factor or inflammatory cytokine? *Cytokine*. 1998;10(1):32-7.
66. Hamilton JA. Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(7):533-44.
67. Le Meur Y, Leprivey-Lorgeot V, Mons S, Jose M, Dantal J, Lemauff B, et al. Serum levels of macrophage-colony stimulating factor (M-CSF): a marker of kidney allograft rejection. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19(7):1862-5.
68. Morris SW, Valentine MB, Shapiro DN, Sublett JE, Deaven LL, Foust JT, et al. Reassignment of the human CSF1 gene to chromosome 1p13-p21. *Blood*. 1991;78(8):2013-20.
69. Cerretti DP, Wignall J, Anderson D, Tushinski RJ, Gallis BM, Styra M, et al. Human macrophage-colony stimulating factor: alternative RNA and protein processing from a single gene. *Mol Immunol*. 1988;25(8):761-70.
70. Douglass TG, Driggers L, Zhang JG, Hoa N, Delgado C, Williams CC, et al. Macrophage colony stimulating factor: not just for macrophages anymore! A gateway into complex biologies. *Int Immunopharmacol*. 2008;8(10):1354-76.
71. Zhang YH, Yan X, Maier CS, Schimerlik MI, Deinzer ML. Structural comparison of recombinant human macrophage colony stimulating factor beta and a partially reduced derivative using hydrogen deuterium exchange and electrospray ionization mass spectrometry. *Protein Sci*. 2001;10(11):2336-45.
72. Stanley ER, Berg KL, Einstein DB, Lee PS, Pixley FJ, Wang Y, et al. Biology and action of colony--stimulating factor-1. *Mol Reprod Dev*. 1997;46(1):4-10.
73. Stanley ER, Chitu V. CSF-1 receptor signaling in myeloid cells. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014;6(6).
74. Lin H, Lee E, Hestir K, Leo C, Huang M, Bosch E, et al. Discovery of a cytokine and its receptor by functional screening of the extracellular proteome. *Science*. 2008;320(5877):807-11.
75. Hume DA, MacDonald KP. Therapeutic applications of macrophage colony-stimulating factor-1 (CSF-1) and antagonists of CSF-1 receptor (CSF-1R) signaling. *Blood*. 2012;119(8):1810-20.
76. Dai XM, Ryan GR, Hapel AJ, Dominguez MG, Russell RG, Kapp S, et al. Targeted disruption of the mouse colony-stimulating factor 1 receptor gene results in osteopetrosis, mononuclear phagocyte deficiency, increased primitive progenitor cell frequencies, and reproductive defects. *Blood*. 2002;99(1):111-20.
77. Chen X, Liu H, Focia PJ, Shim AH, He X. Structure of macrophage colony stimulating factor bound to FMS: diverse signaling assemblies of class III receptor tyrosine kinases. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(47):18267-72.
78. Le Meur Y, Jose MD, Mu W, Atkins RC, Chadban SJ. Macrophage colony-stimulating factor expression and macrophage accumulation in renal allograft rejection. *Transplantation*. 2002;73(8):1318-24.
79. Lenda DM, Kikawada E, Stanley ER, Kelley VR. Reduced macrophage recruitment, proliferation, and activation in colony-stimulating factor-1-deficient mice results in decreased tubular apoptosis during renal inflammation. *J Immunol*. 2003;170(6):3254-62.
80. Ricardo SD, van Goor H, Eddy AA. Macrophage diversity in renal injury and repair. *J Clin Invest*. 2008;118(11):3522-30.

81. Menke J, Iwata Y, Rabacal WA, Basu R, Yeung YG, Humphreys BD, et al. CSF-1 signals directly to renal tubular epithelial cells to mediate repair in mice. *J Clin Invest.* 2009;119(8):2330-42.
82. Fixe P, Lorgeot V, Le Meur Y, Coupey L, Heymann D, Godard A, et al. Development of enzyme-immunoassays (EIA) for macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) and leukaemia inhibitory factor (LIF) by using the same capture and signal generating polyclonal antibody. *Cytokine.* 1996;8(7):586-91.
83. Le Meur Y, Fixe P, Aldigier JC, Leroux-Robert C, Praloran V. Macrophage colony stimulating factor involvement in uremic patients. *Kidney Int.* 1996;50(3):1007-12.
84. Chitu V, Stanley ER. Colony-stimulating factor-1 in immunity and inflammation. *Curr Opin Immunol.* 2006;18(1):39-48.
85. Jose MD, Le Meur Y, Atkins RC, Chadban SJ. Blockade of macrophage colony-stimulating factor reduces macrophage proliferation and accumulation in renal allograft rejection. *Am J Transplant.* 2003;3(3):294-300.
86. Raftery MJ, Seron D, Koffman G, Hartley B, Janossy G, Cameron JS. The relevance of induced class II HLA antigens and macrophage infiltration in early renal allograft biopsies. *Transplantation.* 1989;48(2):238-43.
87. Hamilton JA, Achuthan A. Colony stimulating factors and myeloid cell biology in health and disease. *Trends Immunol.* 2013;34(2):81-9.
88. Chihara T, Suzu S, Hassan R, Chutiwitoonchai N, Hiyoshi M, Motoyoshi K, et al. IL-34 and M-CSF share the receptor Fms but are not identical in biological activity and signal activation. *Cell Death Differ.* 2010;17(12):1917-27.
89. Udomsinprasert W, Jittikoon J, Honsawek S. Interleukin-34 as a promising clinical biomarker and therapeutic target for inflammatory arthritis. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2019;47:43-53.
90. Ma X, Lin WY, Chen Y, Stawicki S, Mukhyala K, Wu Y, et al. Structural basis for the dual recognition of helical cytokines IL-34 and CSF-1 by CSF-1R. *Structure.* 2012;20(4):676-87.
91. Baghdadi M, Umeyama Y, Hama N, Kobayashi T, Han N, Wada H, et al. Interleukin-34, a comprehensive review. *J Leukoc Biol.* 2018;104(5):931-51.
92. Liu H, Leo C, Chen X, Wong BR, Williams LT, Lin H, et al. The mechanism of shared but distinct CSF-1R signaling by the non-homologous cytokines IL-34 and CSF-1. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1824(7):938-45.
93. Nandi S, Cioce M, Yeung YG, Nieves E, Tesfa L, Lin H, et al. Receptor-type protein-tyrosine phosphatase  $\zeta$  is a functional receptor for interleukin-34. *J Biol Chem.* 2013;288(30):21972-86.
94. Segaliny AI, Brion R, Mortier E, Maillason M, Cherel M, Jacques Y, et al. Syndecan-1 regulates the biological activities of interleukin-34. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1853(5):1010-21.
95. Baek JH, Zeng R, Weinmann-Menke J, Valerius MT, Wada Y, Ajay AK, et al. IL-34 mediates acute kidney injury and worsens subsequent chronic kidney disease. *J Clin Invest.* 2015;125(8):3198-214.
96. Wang Y, Szretter KJ, Vermi W, Gilfillan S, Rossini C, Cella M, et al. IL-34 is a tissue-restricted ligand of CSF1R required for the development of Langerhans cells and microglia. *Nat Immunol.* 2012;13(8):753-60.
97. Bethunaickan R, Berthier CC, Zhang W, Kretzler M, Davidson A. Comparative transcriptional profiling of 3 murine models of SLE nephritis reveals both unique and shared regulatory networks. *PLoS One.* 2013;8(10):e77489.
98. San Segundo D, Ruiz P, Irure J, Arias-Loste MT, Cuadrado A, Puente A, et al. Serum Levels of Interleukin-34 During Acute Rejection in Liver Transplantation. *Transplant Proc.* 2016;48(9):2977-9.

99. Isbel NM, Hill PA, Foti R, Mu W, Hurst LA, Stambe C, et al. Tubules are the major site of M-CSF production in experimental kidney disease: correlation with local macrophage proliferation. *Kidney Int.* 2001;60(2):614-25.
100. Mori T, Bartocci A, Satriano J, Zuckerman A, Stanley R, Santiago A, et al. Mouse mesangial cells produce colony-stimulating factor-1 (CSF-1) and express the CSF-1 receptor. *J Immunol.* 1990;144(12):4697-702.
101. Matsuda M, Shikata K, Makino H, Sugimoto H, Ota Z. Glomerular expression of macrophage colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with various forms of glomerulonephritis. *Lab Invest.* 1996;75(3):403-12.
102. Frétier S, Besse A, Delwail A, Garcia M, Morel F, Leprivey-Lorgeot V, et al. Cyclosporin A inhibition of macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) production by activated human T lymphocytes. *J Leukoc Biol.* 2002;71(2):289-94.
103. Chatenoud L, Jungers P, Descamps-Latscha B. Immunological considerations of the uremic and dialyzed patient. *Kidney Int Suppl.* 1994;44:S92-6.
104. Eda H, Zhang J, Keith RH, Michener M, Beidler DR, Monahan JB. Macrophage-colony stimulating factor and interleukin-34 induce chemokines in human whole blood. *Cytokine.* 2010;52(3):215-20.
105. Ponticelli C. Ischaemia-reperfusion injury: a major protagonist in kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant.* 2014;29(6):1134-40.
106. Ounissi M, Cherif M, Abdallah TB, Bacha M, Hedri H, Abderrahim E, et al. Risk factors and consequences of delayed graft function. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2013;24(2):243-6.
107. Halloran PF, Hunsicker LG. Delayed graft function: state of the art, November 10-11, 2000. Summit meeting, Scottsdale, Arizona, USA. *Am J Transplant.* 2001;1(2):115-20.
108. Yoo KD, An JN, Kim CT, Cho JH, Kim CD, Park SK, et al. Clinical outcomes in Asian elderly kidney transplant recipients: a multicenter cohort study. *Transplant Proc.* 2015;47(3):600-7.
109. Chaumont M, Racapé J, Broeders N, El Mountahi F, Massart A, Baudoux T, et al. Delayed Graft Function in Kidney Transplants: Time Evolution, Role of Acute Rejection, Risk Factors, and Impact on Patient and Graft Outcome. *J Transplant.* 2015;2015:163757.
110. Chkhotua AB, Klein T, Shabtai E, Yussim A, Bar-Nathan N, Shaharabani E, et al. Kidney transplantation from living-unrelated donors: comparison of outcome with living-related and cadaveric transplants under current immunosuppressive protocols. *Urology.* 2003;62(6):1002-6.
111. Hillebrand GF, Theodorakis J, Illner WD, Stangl M, Ebeling F, Gutmann T, et al. [Living donors in kidney transplantation. Renaissance by non-related donors?]. *Fortschr Med Orig.* 2001;118(4):135-9.
112. Kwon OJ, Kim YH, Ahn BK, Kang CM, Kwak JY. Long-term graft outcome of living donor renal transplantation: single center experience. *Transplant Proc.* 2005;37(2):690-2.
113. Granger DL CaDN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *Journal of Pathology.* 2000.
114. Menke J, Sollinger D, Schamberger B, Heemann U, Lutz J. The effect of ischemia/reperfusion on the kidney graft. *Curr Opin Organ Transplant.* 2014;19(4):395-400.
115. Leivestad T, Reisaeter AV, Brekke IB, Vartdal F, Thorsby E. The role of HLA matching in renal transplantation: experience from one center. *Rev Immunogenet.* 1999;1(3):343-50.
116. Martins L, Fonseca I, Sousa S, Matos C, Santos J, Dias L, et al. The influence of HLA mismatches and immunosuppression on kidney graft survival: an analysis of more than 1300 patients. *Transplant Proc.* 2007;39(8):2489-93.
117. Panigrahi A, Agarwal SK, Kanga U, Guleria S, Bhowmik D, Dash SC, et al. Influence of HLA compatibility on renal graft survival using live unrelated & cadaver donors in India. *Indian J Med Res.* 2002;115:158-64.

118. Cecka JM. Results of more than 1000 recent living-unrelated donor transplants in the United States. *Transplant Proc.* 1999;31(1-2):234.
119. Jackson JA, Kim EJ, Begley B, Cheeseman J, Harden T, Perez SD, et al. Urinary chemokines CXCL9 and CXCL10 are noninvasive markers of renal allograft rejection and BK viral infection. *Am J Transplant.* 2011;11(10):2228-34.
120. Chen LM, Godinez J, Thisted RA, Woodle ES, Thistlewaite JR, Powers C, et al. New scoring system identifies kidney outcome with radiation therapy in acute renal allograft rejection. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000;46(4):999-1003.
121. Bartocci A, Mastrogriannis DS, Migliorati G, Stockert RJ, Wolkoff AW, Stanley ER. Macrophages specifically regulate the concentration of their own growth factor in the circulation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987;84(17):6179-83.
122. Praloran V, Raventos-Suarez C, Bartocci A, Lucas J, Stanley ER, Gibbons JJ, Jr. Alterations in the expression of colony-stimulating factor-1 and its receptor during an acute graft-vs-host reaction in mice. *J Immunol.* 1990;145(10):3256-61.
123. Chang EJ, Lee SK, Song YS, Jang YJ, Park HS, Hong JP, et al. IL-34 is associated with obesity, chronic inflammation, and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(7):E1263-71.
124. Masteller EL, Wong BR. Targeting IL-34 in chronic inflammation. *Drug Discov Today.* 2014;19(8):1212-6.
125. Zhou RP, Wu XS, Xie YY, Dai BB, Hu W, Ge JF, et al. Functions of interleukin-34 and its emerging association with rheumatoid arthritis. *Immunology.* 2016;149(4):362-73.
126. Wang H, Cao J, Lai X. Serum Interleukin-34 Levels Are Elevated in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Molecules.* 2016;22(1).
127. Moon SJ, Hong YS, Ju JH, Kwok SK, Park SH, Min JK. Increased levels of interleukin 34 in serum and synovial fluid are associated with rheumatoid factor and anticyclic citrullinated peptide antibody titers in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2013;40(11):1842-9.
128. Bataille R, Klein B. C-reactive protein levels as a direct indicator of interleukin-6 levels in humans in vivo. *Arthritis Rheum.* 1992;35(8):982-4.

## 10 Anhang

Tabelle 44: Datenerhebung Organempfänger

---

<b>Datenerhebung Organempfänger</b>	
<b>Vor Transplantation</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Basisdaten (Name pseudoanonymisiert, Alter, Geschlecht, Größe, Gewicht, BMI)</li><li>• Lebend-/Leichennierenspende</li><li>• Blutgruppe</li><li>• Kardiovaskuläre Risikofaktoren (Diabetes mellitus, Nikotinabusus, arterielle Hypertonie, koronare Herzerkrankung)</li><li>• Renale Grunderkrankung</li><li>• Art und Dauer des Nierenersatzverfahrens, Restdiurese, Wartezeit</li><li>• Erst- vs. Folgetransplantation</li><li>• CMV-Serostatus</li><li>• EBV-Serostatus</li><li>• Präformierte AK vor Tx</li><li>• Induktionstherapie und Basisimmunsuppression</li></ul>
<b>Transplantation</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• HLA-Mismatch</li><li>• OP-Daten (SNZ, KIZ, WIZ)</li><li>• Funktionsaufnahme des Organs (Primärfunktion vs. DGF, Kreatinin, Diurese)</li></ul>
<b>Nach Transplantation</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Donorspezifische AK nach Tx</li><li>• Dialyse nach Tx</li><li>• aufgetretene Rejektionen (Indikationsbiopsien)<ul style="list-style-type: none"><li>○ humorale/zelluläre Abstoßung</li><li>○ C4d-Satus</li><li>○ Banff-Klassifikation</li><li>○ IFTA</li><li>○ Fibrose</li><li>○ ATN</li><li>○ Glomerulosklerose</li></ul></li><li>• Labordaten<ul style="list-style-type: none"><li>○ Blutbild (Thrombozyten, Leukozyten, Hämoglobin CRP)</li><li>○ Nierenfunktionsparameter (Kreatinin, Harnstoff, Albumin, Gesamteiweiß)</li></ul></li><li>• Immunsuppression</li><li>• Infektionen<ul style="list-style-type: none"><li>○ CMV-Virämie</li><li>○ BK-Virämie</li></ul></li><li>• Komplikationen<ul style="list-style-type: none"><li>○ Lymphozele</li><li>○ Urinom</li><li>○ Reflux</li><li>○ Harnstau</li><li>○ Tx-Nierenarterienstenose</li><li>○ Harnleiterstenose</li><li>○ Hämatom</li></ul></li><li>• Ggf. Explantation</li><li>• Ggf. Todeszeitpunkt</li></ul>

---

---

*ATN* akute Tubulusnekrose, *BMI* Body-Mass-Index, *CMV/BKV* Cytomegalie-/BK-Virus, *CRP* C-reaktives Protein, *DGF* Delayed graft function, *EBV* Epstein-Barr-Virus, *IFTA*  $\hat{f}$  interstitielle Fibrose und Tubulusatrophie, *KIZ/WIZ* Kalte/warme Ischämiezeit, *SNZ* Schnitt-Nahtzeit

---

*Tabelle 45: Datenerhebung Organspender*

---

**Datenerhebung Organspender**

---

- Basisdaten (Alter, Geschlecht, Größe, Gewicht, BMI)
  - Blutgruppe
  - Leichennierenspenden: Todesursache
  - Lebendnierenspende: verwandtschaftliche Beziehung
  - Kardiovaskuläre Risikofaktoren (Diabetes mellitus, Nikotinabusus, arterielle Hypertonie, koronare Herzerkrankung)
  - CMV-Serostatus
  - EBV-Serostatus
-

## **11 Danksagung**

Eine wissenschaftliche Arbeit wie diese braucht die Unterstützung vieler, um zum Abschluss zu kommen. Die Fertigstellung dieser Arbeit bedeutet mir sehr viel. Mein Dank gilt daher allen Wegbegleitern, die mir jederzeit mit Rat und viel Geduld zur Seite standen.

Mein besonderer Dank gilt ... für ihre Bereitschaft, das Dissertationsvorhaben zu betreuen und zu unterstützen. Sie war stets offen für Fragen und hat mich während meiner ganzen Arbeit motiviert und beraten.

Außerdem möchte ich mich bei meinen Eltern und bei meinen Brüdern bedanken, die mich immer unterstützt haben und mich auf dem Weg durch das Medizinstudium begleitet haben. Danke Mama, Papa, dass ihr mir aus 250 km Entfernung die Kraft gegeben habt, mich in Mainz zu entwickeln und meinen eigenen Weg zu gehen.

