

Aus der Klinik für Allgemeine Chirurgie und Thoraxchirurgie
(Ehem. Direktor: Prof. Dr. B. Kremer)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**EINFLUß EINES INITIALEN IMMUNSUPPRESSIVEN FENSTERS
(WOFIE = WINDOW OF OPPORTUNITY
FOR IMMUNOLOGICAL ENGAGEMENT)
AUF DIE INZIDENZ AKUTER TRANSPLANTATABSTOßUNGEN,
TRANSPLANTATFUNKTION UND
CO-MORBIDITÄTSFAKTOREN NACH ALLOGENER
LEICHENNIERENTRANSPLANTATION:
AUSWERTUNG EINER PROSPEKTIVEN RANDOMISIERTEN
KLINISCHEN STUDIE**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

PHILINE ANN JULIE AMMENWERTH, GEB. LENZ
aus Berlin

Kiel 2009

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Dresske

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Kunzendorf

Tag der mündlichen Prüfung: 1. Juli 2009

Zum Druck genehmigt, Kiel, den: 1. Juli 2009

gez.: Prof. Dr. Stick
(Vorsitzender der Prüfungskommission)

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
1.1 Organtransplantation.....	1
1.2 Transplantatabstoßung.....	2
1.3 Immunsuppression.....	3
1.3.1 Substanzgruppen.....	3
1.3.2 Nebenwirkungen.....	5
1.4 Toleranz und die WOFIE-Hypothese.....	6
2. Fragestellung.....	10
3. Material und Methoden.....	11
3.1 Studiendesign.....	11
3.2 Ein- und Ausschlusskriterien zur Studienaufnahme.....	11
3.3 Studienprotokoll.....	12
3.3.1 Immunsuppressives Protokoll.....	12
3.3.2 Begleitmedikation.....	12
3.4 Nachbeobachtung der Patienten.....	13
3.4.1 Patienten-Protokollführung.....	13
3.4.2 Klinische, apparative und laborchemische Untersuchungen im Rahmen der Studienbesuche.....	14
3.4.3 Definition einer akuten Abstoßungsreaktion.....	15
3.5 Primäre und sekundäre Studienendpunkte.....	15
3.6 Statistische Auswertung.....	16
4. Ergebnisse.....	17
4.1 Demographische Daten.....	17
4.1.1 Demographische Empfängerdaten.....	17
4.1.2 Demographische Spenderdaten.....	19
4.1.3 Demographie der Operationsdaten.....	22
4.2 Patienten- und Transplantatüberleben.....	22
4.3 Immunsuppression.....	22
4.3.1 Steroide und steroidfreie Dauermedikation.....	23
4.3.2 Tacrolimus.....	23
4.3.3 Mycophenolat Mofetil (MMF).....	24
4.3.4 Daclizumab.....	25
4.4 Transplantatfunktion.....	25
4.4.1 Dialysebehandlung.....	25
4.4.2 Renale Retentionsparameter.....	26
4.5 Inzidenz akuter Transplantatabstoßungen.....	28
4.6 Metabolische Effekte.....	30
4.6.1 Hypertonus.....	30
4.6.2 Hyperglykämie/Diabetes mellitus.....	32
4.7 Studienabbrüche und -zwischenfälle.....	33
5. Diskussion.....	36
6. Zusammenfassung.....	44
7. Literaturverzeichnis.....	47
8. Anhang.....	59
Danksagung.....	63
Lebenslauf.....	64

1. Einleitung

1.1 Organtransplantation

Im Jahr 1954 wurde von Murray et al. in Boston die erste erfolgreiche Nierentransplantation zwischen eineiigen Zwillingen durchgeführt (Hamilton 1988). Heute hat sich die Nierentransplantation in der Therapie der terminalen Niereninsuffizienz zu einem chirurgischen Routineverfahren entwickelt. Zwischen 1963 und 2007 wurden in Deutschland 59.801 Nieren verpflanzt, davon 2.340 Nieren im Jahre 2007 (Deutsche Stiftung Organtransplantation, 2008). Fortschritte der modernen Transplantationsmedizin ermöglichen gegenwärtig eine deutlich verbesserte Rate der Langzeittransplantatfunktion. Die 5-Jahres-Transplantatfunktionsrate nach Leichennierentransplantation liegt heute bei ca. 71%, die der Lebendspendennieren bei 83% (Opelz et al.: Collaborative Transplant Study 1995-2004). Die häufigsten Indikationen für eine Nierentransplantation sind Glomerulonephritiden (24,6%) gefolgt von diabetischen Nephropathien (12,9%), Zystennieren (13,8%) und immunologischen Systemerkrankungen (9,8%) (Eurotransplant, 2008). Der heutige Erfolg der Nierentransplantation beruht in erster Linie auf der Entwicklung hochpotenter Immunsuppressiva, welche Inzidenz und Schwere akuter und chronischer Transplantatabstoßungen deutlich senken konnten. Jedoch ist die Wirkung der derzeit in klinischer Anwendung befindlichen Immunsuppressiva relativ unspezifisch und meist nicht gegen spenderspezifische Antigene gerichtet. Zudem ist die Anwendung dieser Immunsuppressiva mit einem zum Teil erheblichen Nebenwirkungsprofil für den Patienten verbunden. Insbesondere die kardiovaskulären Nebenwirkungen (arterielle Hypertonie, Hyperlipoproteinämie, Glukosestoffwechselstörung mit Ausbildung eines Diabetes mellitus Typ 2) sind für fast 50% der Todesfälle nach Nierentransplantation mit funktionstüchtigem Transplantat verantwortlich (Kasiske et al. 2000; Wheeler und Steiger 2000). Einflußfaktoren auf das so genannte Kurzzeitüberleben (im ersten Jahr nach Transplantation) sind präformierte (panel-reaktive) Antikörper, die Anzahl der HLA-(Histokompatibilitätsantigen)-Mismatches (Cecka 1997) und die akuten Transplantatabstoßungen (Matas et al. 1994). Die Langzeitfunktion wird vor allem durch die Rate früher durchlebter akuter Abstoßungsreaktionen (Almond et al. 1993; Gulanika et al. 1992), die kalte Ischämiezeit

(Laskowski et al. 2002) und die so genannte chronische Transplantatnephropathie (Salvadori et al. 2004) bestimmt, welche sich auch als Folge arteriosklerotischer Umbauvorgänge entwickelt (Solez et al. 1993; Gaber et al. 1997).

1.2 Transplantatabstoßung

Basierend auf Morphologie und den involvierten immunologischen Mechanismen werden Abstoßungsreaktionen als hyperakut, akut und chronisch (heute chronische Transplantatnephropathie) klassifiziert. Die Diagnose wird histologisch nach der international akzeptierten Klassifikation der Pathologie für akute und chronische Transplantatabstoßung transplantierte Nieren (Banff-Klassifikation) verifiziert. Gegenwärtig werden fünf Schweregrade und eine "Borderline"-Veränderung der akuten und drei Schweregrade der chronischen Abstoßung unterschieden (Solez et al. 1993; Gaber et al. 1997). Die hyperakute Abstoßung erfolgt innerhalb von 48 Stunden post-transplantationem aufgrund präformierter humoraler (zytotoxischer) Antikörper, die durch eine vorangegangene Sensibilisierung induziert wurden. Die heute zur Verfügung stehenden Techniken zur Kreuztestung von zirkulierenden Antikörpern des Empfängers gegen Donor-Lymphozyten (Crossmatch) konnten das Risiko einer hyperakuten Abstoßungsreaktion deutlich senken (Solez et al. 1993; Gaber et al. 1997). Die akute Abstoßung stellt innerhalb der ersten Wochen nach Transplantation durch primäre Aktivierung von T-Lymphozyten die häufigste und wichtigste Form der Transplantatabstoßung dar. Diverse Studien konnten zeigen, daß akute Abstoßungsreaktionen ein Hauptrisikofaktor für das Entstehen einer chronischen Abstoßung sind und mit einer Inzidenz von 30% in den ersten 3 Monaten nach Transplantation auftreten (Gulanikar et al. 1992; Almond et al. 1993; Vanrenterghem 1995; Halloran et al. 1999). Histologische Kriterien einer akuten Abstoßungsreaktion sind die Tubulitis (lymphozytäre Infiltrate der Tubuli) und die intimale Arteriitis (Endotheliitis). Die Banff-Klassifikation unterscheidet eine Borderline-Veränderung mit einer fokalen, milden Tubulitis (1-4 mononukleäre Zellen pro Tubulusquerschnitt) ohne gleichzeitige intimale Arteriitis. Des Weiteren werden die akute Abstoßung Grad IA, IB, IIA, IIB und Grad III unterschieden. Grad III zeigt eine transmurale Arteriitis oder fibrinoide Veränderungen und Nekrosen im Bereich der glatten Muskelzellen der Media (Solez et al. 1993; Gaber et al. 1997). Die chronische

Abstoßungsreaktion, die durch längere zelluläre und humorale Abstoßungsmechanismen bedingt ist, manifestiert sich histologisch als Transplantatglomerulopathie mit tubulärer Atrophie, interstitieller Fibrose, Arterio- und Arteriolsklerose und Hyalinose als Folge einer zunehmenden Ischämie. Im Laufe von Jahren kommt es zu Gefäßobliterationen, zu Parenchymfibrose und einer progredienten irreversiblen Funktionseinschränkung des Transplantats (Solez et al. 1993; Gaber et al. 1997).

1.3 Immunsuppression

1.3.1 Substanzgruppen

Die Einführung des Calcineurininhibitors Cyclosporin A im Jahr 1982 revolutionierte die klinische Organtransplantation. In Kombination mit den bereits eingesetzten Steroiden und Azathioprin konnte die Inzidenz akuter Transplantatabstoßungen deutlich gesenkt werden (Kahan 1982). Heute stehen für die Inhibition von Aktivierung und Proliferation der für die immunologische Transplantatantwort bedeutsamen T-Lymphozyten verschiedene pharmakologische Substanzen zur Verfügung. Ihre immunsuppressive Potenz konnte zum einen die Inzidenz akuter und chronischer Rejektionen senken, zum anderen diese in ihrer Intensität schwächen und somit zu einem erfolgreichen Erhalt des Transplantats beitragen (Karow und Lang 2004; Borel 1986). Die immunsuppressive Dauertherapie erfolgt heutzutage in der Regel als Tripletherapie mit Steroiden, einem Calcineurininhibitor (Cyclosporin A, Tacrolimus) und einem Purinsyntheseinhibitor (Mycophenolat Mofetil). Bei immunologischen Hochrisikopatienten (zum Beispiel Zweittransplantationen oder Patienten mit präformierten Antikörpern) wird meist zusätzlich eine Induktionstherapie mit einem poly- oder monoklonalen Antikörper (Antithymozytenglobulin (ATG), Ortoclone (OKT 3), Interleukin(IL)-2-Rezeptor-Antikörper) durchgeführt. Die Rolle der Antikörper erfährt derzeit eine neue Bedeutung im Rahmen von Calcineurininhibitor-sparenden Protokollen zur Senkung der Nephrotoxizität (Lo et al. 2004). Bei einer akuten Transplantatabstoßung erfolgt meist eine hochdosierte Glukokortikoid-Stoßtherapie. Bei Steroidresistenz werden Antikörper appliziert (Karow und Lang 2004).

Die in dieser Studie verwendeten Immunsuppressiva werden im Folgenden erwähnt.

Mycophenolat Mofetil (MMF), Cellcept® wurde 1986 aus einer Penicillinkultur isoliert. Seine Bedeutung gewinnt es in der selektiven Proliferationshemmung von T- und B-Lymphozyten. Die nicht kompetitive, reversible Hemmung des Schlüsselenzyms Inosinmonophosphatdehydrogenase durch die Mycophenolsäure bewirkt eine selektive Hemmung der DNA-Synthese in den Lymphozyten, da diese im Gegensatz zu den meisten anderen Körperzellen von dem Wiederverwertungsstoffwechsel der De-novo-Purin-Synthese abhängig ist. Ferner erfolgt eine Hemmung der Glykolisierung von Adhäsionsmolekülen in Lympho- und Monozyten (Karow und Lang 2004).

Tacrolimus, FK-506, Prograf® ist ein Makrolid, welches 1984 im *Streptomyces tsukubaensis* entdeckt wurde. Es weist einen ähnlichen Wirkungsmechanismus wie Cyclosporin A (Gruppe der Calcineurininhibitoren) auf, besitzt jedoch eine stärkere immunsuppressive Potenz (Ader und Rostaing 1998; Silva et al. 2007). Über mehrere Zwischenschritte inhibiert ein FK-506-Protein-Komplex die IL-2-Produktion und Freisetzung in den T-Lymphozyten und unterdrückt somit deren Aktivierung (Karow und Lang 2004).

Prednisolon, Solu-Decortin H®. Erstmals wurden Glukokortikoide 1930 aus der Nebennierenrinde isoliert und kamen 1949 bei Patienten mit rheumatoider Arthritis zum Einsatz. Seit 1953 werden sie synthetisch hergestellt. Ihr primärer Wirkungsmechanismus besteht in einem antiinflammatorischen Effekt. Durch Inhibition der Bildung von IL-1 und weiteren Zytokinen sowie der Expression von Adhäsionsmolekülen auf dendritischen Zellen und Makrophagen wird die Interaktion zwischen T-Lymphozyten und antigenpräsentierenden Zellen gestört. Aufgrund dieser Hemmung der zellulären und in höheren Dosen auch der humoralen Immunantwort werden Glukokortikoide nach Organtransplantation eingesetzt. Dieses erfolgt hochdosiert bei der akuten Abstoßungsreaktion („Cortison-Stoßtherapie“) und in Kombination mit Calcineurininhibitoren und MMF (Karow und Lang 2004).

Daclizumab, Zenapax® ist der erste humanisierte monoklonale IL-2-Rezeptorantikörper, der zur Prophylaxe einer Transplantatabstoßung zugelassen wurde. Er bindet spezifisch an eine Untereinheit des an der Zelloberfläche aktivierter T-Lymphozyten exprimierten IL-2-Rezeptors. Sein geringer Anteil an Mausprotein (nur hochpolymorphe Rezeptorabschnitte) erklärt die geringe Antigenität. Der Einsatz von Daclizumab im Rahmen der Induktion nach Lebertransplantation konnte die Inzidenz akuter Transplantatabstoßungen senken

(Nashan 2005). Zudem konnten neuere Studien zeigen, daß durch den Einsatz von Il-2-Rezeptorantikörpern die Dosis von Calcineurininhibitoren in der initialen Phase nach Transplantation gesenkt werden konnte (Ciancio et al. 2005).

1.3.2 Nebenwirkungen

Die Notwendigkeit einer lebenslänglichen immunsuppressiven Therapie ist mit einem deutlichen Nebenwirkungsprofil für den Organempfänger verbunden. Zudem bedingt die herabgesetzte Immunabwehr ein erhöhtes Risiko für virale, bakterielle und mykotische Infektionen, sowie eine erhöhte Inzidenz von malignen Neoplasien (Kasiske und Danpanich 2000). Vor allem die beiden Säulen der Immunsuppression, die Calcineurininhibitoren (Cyclosporin A und Tacrolimus) und die Glukokortikosteroide, werden für kardiovaskuläre Spätfolgen verantwortlich gemacht. Sie bedingen dosisabhängig eine diabetogene Stoffwechsellage, Hyperlipoproteinämie und arterielle Hypertonie, was zu einer Progression der Atherosklerose mit all ihren schwerwiegenden klinischen Manifestationsformen führt. Die durch kardiovaskuläre Veränderungen hervorgerufenen Erkrankungen, insbesondere der Myokardinfarkt und der cerebrale Insult, sind in fast 50 % der Fälle Ursache für den Tod eines transplantierten Patienten mit funktionierendem Transplantat (Kasiske et al. 2000). Ein unabhängiger Risikofaktor der koronaren Herzkrankheit stellen laut Kasiske et al. die Hyperlipoproteinämie sowie der sehr oft vorbestehende Diabetes mellitus Typ 2 dar. Vierzig bis 60% aller nieren- und lebertransplantierten Patienten weisen eine medikamentös induzierte Fettstoffwechselstörung auf (Donahoo et al. 1998). Bei 60-80% aller nierentransplantierten Patienten können eine neu aufgetretene arterielle Hypertonie oder eine Verschlechterung einer vorbestehenden Hypertonie festgestellt werden (Rosenberger et al. 2005). Andere unabhängige Risikofaktoren für den Organverlust nach Transplantation auf dem Boden des Progresses einer Atherosklerose sind laut Kasiske et al. das männliche Geschlecht, Alter, Nikotinabusus und die Anzahl akuter Transplantatabstoßungsreaktionen (Kasiske et al. 2000).

Weitere Nebenwirkungen des Calcineurininhibitors **Tacrolimus** sind Neuro- und Nephrotoxizität. In 60-70% aller Protokollbiopsien finden sich bereits nach 2 Jahren histologische Zeichen einer chronischen Transplantatnephropathie (Solez et al. 1998). Des Weiteren werden gastrointestinale Beschwerden (Diarrhoe), Anämie und Alopezie

beschrieben. Zwar scheint der Calcineurininhibitor Tacrolimus im Vergleich zu Cyclosporin A mit einer geringeren Inzidenz von Bluthochdruck und Hyperlipoproteinämie assoziiert zu sein (Shapiro 1999), aber die diabetogene Wirkung ist, wenn auch dosisabhängig, deutlich stärker ausgeprägt (Pirsch et al. 1997). Aufgrund der selektiven Proliferationshemmung von Lymphozyten ist **Mycophenolat Mofetil** weniger nephrotoxisch und induziert keinen Hypertonus. Als wichtige Nebenwirkungen sind gastrointestinale Beschwerden wie Diarrhoe sowie eine Knochenmarksdepression mit Leuko- und Thrombozytopenie und das dadurch bedingte erhöhte Risiko opportunistischer Infektionen, zu erwähnen (Karow und Lang 2004). Durch den zusätzlichen Einsatz von MMF konnte die Dosis der nephrotoxischen Calcineurininhibitoren gesenkt werden (Merville et al. 2004). Die vielfältigen Nebenwirkungen von **Prednisolon** sind ebenfalls abhängig von Dosis und Dauer der Einnahme. So kommt es durch seine mineralokortikoide Wirkung zu kardiovaskulären Komplikationen. Elektrolyt-, Volumenhaushalts- und Stoffwechselstörungen verursachen arterielle Hypertonie, Hyperlipoproteinämie, Ödeme sowie eine generalisierte Osteoporoseneigung. Es hat einen starken diabetogenen und anabolen Effekt. Ophthalmologische Komplikationen wie Katarakt- und Glaukomentwicklung werden ebenfalls unter Steroidtherapie beobachtet (Citterio et al. 2001). Zu den Nebenwirkungen von **Daclizumab** zählen unspezifische Nebenwirkungen wie gastrointestinale Beschwerden und allergischer Hautausschlag (Karow und Lang 2004).

1.4 Toleranz und die WOFIE-Hypothese

Die lebenslang einzunehmende Immunsuppression, die zur Vermeidung des Transplantatverlustes notwendig ist, stellt durch ihr Nebenwirkungsprofil ein gravierendes Problem im Bereich der klinischen Organtransplantation dar. Die modernen immunsuppressiven Schemata sind trotz ständiger Verbesserung noch weit von einer idealen Therapie entfernt. Das ultimative Ziel der modernen Transplantationsmedizin ist nach wie vor das Erreichen einer spenderspezifischen Toleranz, einer dauerhaften Akzeptanz des Spenderorgans ohne medikamentöse Immunsuppression.

Ein wesentlicher Schritt gelang 1953 Billingham et al. (Billingham et al. 1953). Sie inokulierten Milzzellen eines allogenen Stammes in Mäuseföten. Nach Geburt der Mäuse

wiesen diese eine spenderspezifische Toleranz gegenüber Hauttransplantaten des Spendertieres auf, während Drittstammtransplantate abgestoßen wurden. Klinische Transplantattoleranz wurde in einzelnen Fällen nach vorangegangener allogener Knochenmarktransplantation durch denselben Spender der zweizeitig transplantierten Niere beschrieben (Starzl et al. 2004; Rao et al. 1997). Wegen der nicht akzeptablen Toxizität des Protokolls sind diese Ansätze für den routinemäßigen Gebrauch in der Klinik nicht geeignet. Aufgrund zahlreicher experimenteller und klinischer Studien auf dem Gebiet der Lebertransplantation ist bekannt, daß die Leber ein immunologisch privilegiertes Organ ist. Entgegen den gültigen Transplantationsgesetzen werden zwischen einigen MHC(Major Histocompatibility Complex)-disparanten Schweine- und Rattenstämmen Lebertransplantate über die MHC-Barrieren hinaus spontan toleriert. Klinische Beobachtungen, wonach einige lebertransplantierte Patienten auch nach Absetzen der Immunsuppressiva eine normale Transplantatfunktion aufwiesen, bestätigten diese einzigartige immunmodulative Fähigkeit der Leber (Starzl et al. 1992). Wird zweizeitig nach der Leber ein weiteres Organ desselben Spenders transplantiert, unterliegt dieses der Protektion durch die Leber. Das Risiko einer Abstoßung ist deutlich gemindert (Calne et al. 1994). Eine Reihe von Faktoren, darunter von der transplantierten Leber produzierte soluble MHC-Klasse I Moleküle (Sriwatanawongsa et al. 1995), die Induktion von Mikrochimerismus über transferrierte Stammzellen (Taniguchi et al. 2001; Dahmen et al. 1994), lebereigene Suppressionsfaktoren (Kamada 1995), die Aktivierung von T-Suppressorzellen (Knoop et al. 1994) und Zytokinen, insbesondere Il-2 und Interferon- γ (Bishop et al. 1997), sowie die Population leberansässiger "passenger leucocytes" (Chiba et al. 1997; Sun et al. 1996) scheinen bei der Induktion spontaner Toleranz eine Rolle zu spielen.

Basierend auf dem so genannten „Leberphänomen“, entwickelte R. Calne 1994 die „window of opportunity for immunological engagement-Hypothese“ („WOFIE-Hypothese“). Er postulierte, daß nach Lebertransplantation eine sich selbst limitierende Abstoßungsreaktion durchlaufen wird, welche zu einem Zustand spontaner Transplantatakzeptanz führt (Calne et al. 1994). Spontan tolerierte Lebertransplantate MHC-disparanter Schweine wiesen in der initialen Phase nach Transplantation Infiltrate immunkompetenter Empfängerzellen ohne begleitende Organdestruktion auf. Somit wurde weiterhin postuliert, daß für die Ausbildung

spenderspezifischer Toleranz eine Interaktion immunkompetenter Zellen von Empfänger und Spender in der frühen Phase nach Organtransplantation notwendig sei, welche normalerweise durch die Gabe hochdosierter Immunsuppressiva verhindert wird. Die Einhaltung eines initialen immunsuppressiven Fensters (WOFIE) hingegen würde diese wichtige Interaktion ermöglichen. Im Schweinmodell führte die 48-stündige Unterbrechung einer insgesamt 7-tägigen Immunsuppression mit dem Calcineurininhibitor Cyclosporin A zu einem Langzeitüberleben allogenen transplantierte Nieren (Calne et al. 1994). Da zweizeitig transplantierte Spenderhaut jedoch abgestoßen wurde, handelte es sich bei diesem Modell nicht um die klassische Induktion spenderspezifischer Toleranz. Dieser Zustand der Langzeitorganakzeptanz wurde von R. Calne als „operational tolerance“ oder Beinahe-Toleranz bezeichnet (Calne et al., 1994). Im Tiermodell der allogenen Herztransplantation konnte in der Ratte die Gültigkeit des WOFIE-Protokolls auch für den Calcineurininhibitor demonstriert werden (Dresske et al. 1999). Erste klinische Daten von R. Calne zeigten, daß die Einhaltung eines immunsuppressiven Fensters nach Induktion mit dem anti-CD52-Antikörper Campath 1H eine steroidfreie niedrig-dosierte Monotherapie mit Cyclosporin A ermöglicht. Mit dem WOFIE-Protokoll schien erstmals eine Möglichkeit geschaffen, im klinischen Alltag die Immunsuppression und die damit assoziierten Nebenwirkungen auf ein Minimum zu reduzieren, ohne den Patienten dabei einem erhöhten Abstoßungsrisiko auszusetzen. Trotz dieser ermutigenden Ergebnisse bleiben jedoch noch viele Fragen bezüglich der WOFIE-Hypothese ungeklärt. Zum einen ist nicht ersichtlich, ob ausschließlich die Unterbrechung der Immunsuppression für den tolerogenen Effekt verantwortlich war, oder ob bereits die Gabe des hochpotenten Antikörpers Campath 1H einen Verzicht auf Steroide ermöglichte. Eine Kontroll-Gruppe, bei welcher die Immunsuppression nicht pausiert wurde, fehlte bei der ersten klinischen Anwendung des Protokolls. Die Frage, ob das WOFIE-Protokoll auch unter Verwendung klinisch etablierter Immunsuppressiva einen günstigen Effekt auf das Transplantatüberleben hat, ist somit von entscheidender Bedeutung für den klinischen Alltag.

In der vorliegenden prospektiven randomisierten klinischen Studie sollte das WOFIE-Protokoll unter Anwendung etablierter Immunsuppressiva (Tacrolimus, MMF, Prednisolon und Daclizumab) nach Leichnientransplantation untersucht werden. Ziel der Studie war

7. Literaturverzeichnis

die Ermöglichung einer steroidfreien Dauerimmunsuppression nach 12 bis 16 Wochen. Eine Kontroll-Gruppe, in welcher die Immunsuppression initial nicht unterbrochen wurde, diente der Überprüfung des WOFIE-Effektes. Im Einzelnen wurden die unter Punkt 2 aufgeführten Fragestellungen bearbeitet.

2. Fragestellung

Das WOFIE- (window of opportunity for immunological engagement) Konzept als Möglichkeit zur Induktion operationaler Toleranz sollte im Rahmen einer prospektiven randomisierten kontrollierten klinischen Studie nach allogener Leihennierentransplantation für folgende Fragestellungen untersucht werden:

1. Hat das WOFIE-Protokoll auch unter Verwendung etablierter Immunsuppressiva (Tacrolimus, MMF, Steroide und Daclizumab) einen günstigen Effekt auf das Transplantatüberleben?
2. Welchen Einfluß hat eine initiale immunsuppressive Pause von 72 Stunden auf die Inzidenz und Schwere akuter Transplantatabstoßungen?
3. Inwieweit beeinflusst die Einhaltung einer initialen immunsuppressiven Pause von 72 Stunden die renale Funktionsleistung nach Transplantation?
4. Ermöglicht die Einhaltung eines initialen immunsuppressiven Fensters einen Steroidentzug und eine niedrig dosierte Dauerimmunsuppression mit MMF und Tacrolimus?
5. Können durch das WOFIE-Protokoll kardiovaskuläre Co-Morbiditätsfaktoren (Hypertonus, Glukoseintoleranz, Hyperlipoproteinämie) reduziert werden?

3. Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Im Zeitraum Mai 2000 bis März 2003 wurden in der Klinik für Allgemeine Chirurgie und Thoraxchirurgie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, 40 Patienten in die offene prospektive Studie aufgenommen und im Verhältnis 1:1 ohne Verblindung randomisiert. Das Patientenkollektiv wurde 24 Monate nach Erhalt eines Leichennierentransplantats unter Studiengesichtspunkten in zeitlich definierten Abständen stationär und in der Transplantationsambulanz der Klinik für Allgemeine Chirurgie und Thoraxchirurgie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel ambulant nachbeobachtet.

Die Studie erfolgte mit Genehmigung der Ethikkommission des Universitätsklinikums Schleswig-Holsteins, Campus Kiel (AZ: A158-99).

Primäres Studienziel war es, den Einfluß eines initialen immunsuppressiven Fensters von 72 Stunden (WOFIE-Gruppe, 20 Patienten) auf Sicherheit und Effektivität eines frühen Steroidentzuges zu prüfen. Eine Gruppe, deren Immunsuppression nicht unterbrochen wurde, diente als Kontrolle (Kontroll-Gruppe, 20 Patienten).

3.2 Ein- und Ausschlußkriterien zur Studienaufnahme

Pro Studiengruppe wurden 20 Patienten im Alter von 18 und 75 Jahren eingeschlossen, welche eine Leichennierentransplantat erhielten. Zugelassen waren Leichentransplantate ABO-kompatibler Spender zwischen 10 und 75 Jahren. Weibliche Studienteilnehmer im gebärfähigen Alter mussten einen negativen Schwangerschaftstest aufweisen und sich zu einer Kontrazeption innerhalb der ersten zwölf Monate nach Transplantation verpflichten.

Patienten, welche ihr Nierentransplantat im Rahmen einer Multiorgantransplantation erhielten, wurden von der Studie ausgeschlossen. Die Patienten durften an keiner chronischen oder aktiven Infektion (zum Beispiel Hepatitis B- oder C-Virus) leiden. Eine Infektion mit HIV musste ebenfalls ausgeschlossen sein. Es durften keine unbehandelten Malignomerkrankungen bestehen. Des Weiteren führte ein um mehr als 80% erhöhter

Serumspiegel panel-reaktiver Antikörper, eine das medikamentöse Protokoll störende Begleitmedikation, eine gegen ein Studienmedikament bekannte Unverträglichkeit sowie die zeitgleiche Teilnahme an einer anderen Studie zum Studienausschluß. Eine schriftliche Einverständniserklärung lag für jeden Studienteilnehmer vor.

3.3 Studienprotokoll

3.3.1 Immunsuppressives Protokoll

Sowohl die WOFIE- als auch die Kontroll-Gruppe erhielten 2 Stunden vor Transplantation eine Induktionsdosis bestehend aus 250 mg Prednisolon (Decortin H[®], Merck, Darmstadt), 2 g Mycophenolat Mofetil (MMF, Cellcept[®], Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) und den Il-2-Rezeptorantagonisten Daclizumab (Zenapax[®], Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) in der Dosierung von 1 mg/kg Körpergewicht. Intraoperativ erfolgte kurz vor Reperfusion der transplantierten Niere die Injektion von 250 mg Prednisolon. Nach der Reperfusion wurde in der WOFIE-Gruppe die Immunsuppression für insgesamt 72 Stunden unterbrochen, während in der Kontroll-Gruppe die Immunsuppression 6 Stunden nach Transplantation fortgesetzt wurde.

Die Dauerimmunsuppression während der ersten 8 Wochen nach Transplantation umfasste Tacrolimus (Prograf[®], Astellas, München) mit einem Talspiegel von 10-12 ng/ml in der ersten Woche nach Transplantation und von 5-10 ng/ml ab dem 8. Tag nach Transplantation, MMF (1-2 g/Tag), Daclizumab (1 mg/kg Körpergewicht 2, 4, 6 and 8 Wochen nach Transplantation) sowie Prednisolon in einer Erhaltungsdosis von 10 mg/Tag nach initialer Dosisreduktion. Acht Wochen nach Transplantation wurde das Prednisolon über einen Zeitraum von 4-8 Wochen in beiden Gruppen schrittweise (um 2,5 mg Prednisolon alle 1 bis 2 Wochen) in beiden Gruppen reduziert. Nach dem Steroidentzug verblieben die Patienten beider Gruppen auf einer Dualtherapie mit MMF (1-2 g/Tag) und Tacrolimus (Talspiegel 5-10 ng/ml).

3.3.2 Begleitmedikation

Alle Studienpatienten erhielten den Lipidsenker Fluvastatin (Locol[®], Novartis, Basel, 80 mg/Tag) als Begleitmedikation. Während der ersten 7 Tage nach Transplantation erfolgte eine Thromboseprophylaxe mit Heparin (Liquemin, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, 2x5000 IE, s.c.). Bis zum kompletten Absetzen der Steroidmedikation wurde eine

medikamentöse Therapie mit Ranitidin (Sostril, Glaxo Smith Kline, München, 300 mg/Tag) und Amphotericin B/ Nystatin (E. R. Squibb & Sons, New Brunswick, USA, (6 x 2 Pipetten/Tag) durchgeführt. Die antihypertensive Therapie und übrige Hausmedikation des Patienten wurden zunächst, sofern kompatibel, mit den übrigen Medikamenten, beibehalten und im weiteren Verlauf angepasst.

Eine Cytomegalievirusprophylaxe (CMV-Prophylaxe) mit Ganciclovir (Cymeven[®], Hoffmann-La Roche, Grenzach-Wyhlen) erfolgte im Falle einer Transplantation eines CMV-positiven Organs auf einen CMV-positiven oder -negativen Empfänger für insgesamt 12 Wochen nach Transplantation in einer der Kreatininclearance angepassten Dosierung.

Patienten, welche eine akute Transplantatabstoßung erfuhren, wurden mit einer intravenösen Steroidstoßtherapie über 3 Tage (maximale kumulative Dosis von 3 g) behandelt. Bei Ansprechen auf die Therapie wurden sie in der Studie belassen. Steroidresistente Abstoßungen wurden mit einer Antikörpertherapie (Antithymozytenglobulin (ATG), Fresenius, Bad Homburg; oder Ortoclone (OKT 3), Muromonab-CD3, Janssen-Cilag GmbH, Neuss) behandelt und wurden aus der Studie ausgeschlossen.

3.4 Nachbeobachtung der Patienten

3.4.1 Patienten-Protokollführung

Zwecks wissenschaftlicher Auswertung wurde jeder Patient mit einer Teilnehmernummer versorgt, und die erhobenen Daten des Krankheitsverlaufs in einem eigenen Protokollordner dokumentiert. Der Ordner bestand aus drei Teilen.

- Teil I: Vorgeschichte: Ein- und Ausschlusskriterien, allgemeine Patientendaten: Geburtsdatum, Geschlecht, Rasse, Größe, Gewicht, Ausgangsblutdruck, zur Dialysepflichtigkeit führende Grunderkrankung, Restdiurese, Dialyseart,- dauer, Datum der letzten Dialyse vor Transplantation, eine eventuell bereits stattgehabten Nierentransplantation, Vor- und Begleiterkrankungen, Vormedikation; Laborparameter (Blutbild, Elektrolyte, Leber, Nieren-, Fettstoffwechselfunktionswerte, Endzündungsparameter), Serologie auf HIV, Hepatitis C-, Hepatitis B-, Cytomegalie-Virus, Candida albicans, Aspergillus fumigatus; Spenderdaten mit Todesursache, Geschlecht, Rasse, Beginn der Organperfusion, Diurese in den letzten 24 Stunden und der letzten Stunde vor Organentnahme, Serumharnstoff,

Serumkreatinin, Urinstatus, Serologie (HIV, Hepatitis C-, Hepatitis B-, Cytomegalie-Virus), Zeitpunkt der Organentnahme, HLA-Status, Crossmatch; Operationsdaten mit Transplantationsdatum, Operationsdauer, Kalte und Warme Ischämiezeit, intraoperative Komplikationen, Blutkonservengabe, eine initiale Urinproduktion der Transplantatniere

•Teil II: die „Visits“ (bestehend aus 3 Abschnitten): Patientendaten, Medikation, Laborparameter, Virusserologie, Urinstatus und Urinmikrobiologie

•Teil III: besondere Vorkommnisse (adverse events, unerwünschte Ereignisse): Transplantatabstoßungen, ein eventuell vorzeitiger Studienabbruch

3.4.2 Klinische, apparative und laborchemische Untersuchungen im Rahmen der Studienbesuche

Die Patienten wurden im Zeitraum von 2 Jahren in definierten zeitlichen Abständen untersucht. Zunächst erfolgte die tägliche Untersuchung im Rahmen des stationären Aufenthaltes. Nach Entlassung wurden die Patienten bis zur 8. Woche wöchentlich, bis zum 6. Monat einmal monatlich und anschließend alle 2 Monate in der Transplantationsambulanz der Klinik für Allgemeine Chirurgie und Thoraxchirurgie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel vorstellig.

Die Ergebnisse der entsprechenden klinischen, apparativen und laborchemischen Untersuchungen wurden protokolliert. Bei jedem Studienbesuch erfolgten eine körperliche Untersuchung mit Bestimmung von Gewicht, Körpertemperatur und Blutdruck (nach Riva-Rocci). Bluthochdruck wurde als ein systolischer Blutdruck von ≥ 140 mmHg und ein diastolischer Blutdruck von ≥ 100 mmHg definiert (siehe Anhangstabelle 3). Zudem wurde die Ein- und Ausfuhr von Flüssigkeit über 24 Stunden gemessen. Es erfolgten eine sonographische Beurteilung des Organs und die Bestimmung des Perfusionsindex (PI) in der Klinik für Nephrologie der I. Medizinischen Klinik des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel. Die bestimmten laborchemischen Parameter umfassten: Differentialblutbild, Hämoglobin, Hämatokrit, Thrombozyten, MCV (mean corpuscular volumen), MHCV (mean corpuscular hemoglobin), C-reaktives Protein, Elektrolyte (Natrium, Kalium, Calcium, Chlorid, Phosphat, Magnesium), Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), Gamma-Glutamyl-Transferase (γ GT), Alkalische Phosphatase (AP), Bilirubin gesamt und direkt, Kreatinin, Harnstoff, Triglyceride,

Cholesterin, Totalprotein, Albumin, Blutzucker und den aktuellen Tacrolimustalspiegel. Des Weiteren erfolgte die Untersuchung des Urins (Urinstatus mit Protein, Kreatinin, Harnstoff, Elektrolyte, Urinsediment und eine mikrobiologische Untersuchung auf Bakterien und Pilze). Die laborchemischen Untersuchungen erfolgten durch das Zentrallabor des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel. Die Referenzbereiche der in der Studie verwendeten Laborparameter können der Anhangstabelle 1 entnommen werden. Der Tacrolimustalspiegel wurde mit dem IMX Tacrolimus II Assay der Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA, bestimmt (siehe Anhangstabelle 2).

Innerhalb des stationären Aufenthaltes erfolgten 1x/Woche serologische und virologische Untersuchungen im Institut für Mikrobiologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, zum Ausschluß einer mykotischen oder viralen Infektion (Candida albicans, Aspergillus fumigatus, Herpes simplex-, Varizella Zoster-, Ebstein-Barr-Virus und Cytomegalie-Virus (Antigennachweis mit pp65, CMV-DNA).

3.4.3 Definition einer akuten Abstoßungsreaktion

Bei klinischem und laborchemischen Verdacht auf das Vorliegen einer akuten Transplantatabstoßung (Kreatininanstieg im Serum $>0,5$ mg/dl, Abnahme der Diuresemenge, Gewichtszunahme, erhöhte Körpertemperatur, allgemeine Abgeschlagenheit, Inappetenz, klinisch und sonographisch geschwollenes Transplantat mit Anstieg des Perfusionsindex) erfolgte eine sofortige sonographisch gesteuerte Transplantatbiopsie vor der Abstoßungsbehandlung, falls keine medizinische Kontraindikation vorlag. Die histologische Auswertung der Biopsien wurde im Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, durchgeführt. Das modifizierte Banff-Schema von 1997 (Solez et al. 1998) wurde für die histologische Klassifikation verwendet.

3.5 Primäre und sekundäre Studienendpunkte

Als primärerer Studienendpunkt wurden die Inzidenz und der Zeitpunkt bis zur ersten akuten Abstoßungsperiode gewertet. Sekundäre Endpunkte umfassten Patienten- und Transplantatüberleben, Transplantatfunktion und Inzidenz und Schwere von Posttransplantations-Hypertonus und -Diabetes mellitus.

Ein Ereignis wurde als behandlungswürdiger Zwischenfall (adverse event) protokolliert, wenn er neu aufgetreten war oder sich im Verlauf verschlechtert hatte.

Die Teilnahme an der Studie konnte jederzeit durch den Patienten oder den behandelnden Studienarzt zurückgezogen werden. Aufgrund der initialen immunsuppressiven Pause wurde eine Verbesserung der Co-Morbiditäts-/Mortalitätsfaktoren erwartet.

3.6 Statistische Auswertung

Jeder randomisierte Patient, welcher mindestens eine Studienmedikation erhalten hatte, wurde in die statistische Auswertung mit einbezogen. Die Randomisierung erfolgte vor Studienbeginn mit Hilfe von Zufallszahlen. Überlebenszeiten wurden nach Kaplan-Meier analysiert und mit dem generalisierten log-rank-Test nach Mantel-Cox verglichen. Für den Vergleich von 2 qualitativen Variablen wurde der Fisher's exact Test, von mehr als 2 qualitativen Variablen der Chi Quadrat Test verwendet. Die Auswertung quantitativer Variablen erfolgte als Varianzanalyse (2-way ANOVA). Der Bonferroni post Test wurde verwendet, um paarweise Unterschiede zu spezifizieren. Mit einem T-Test wurden Hypothesen über Erwartungswerte einer oder zweier normalverteilter Grundgesamtheiten getestet. Das Signifikanzniveau wurde mit $P < 0,05$ festgelegt. Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe des Computerprogramms GraphPad-Prism, Version 3.02 (GraphPad Software, San Diego, USA) durchgeführt.

4. Ergebnisse

4.1 Demographische Daten

Im Zeitraum Mai 2000 bis März 2003 wurden in der Klinik für Allgemeine Chirurgie und Thoraxchirurgie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, 40 Patienten, welche einer allogenen Leichennierentransplantation zugeführt wurden, in die vorliegende offene prospektive Studie aufgenommen und im Verhältnis 1:1 ohne Verblindung randomisiert. Vierzehn von 20 (70%) WOFIE- und 16 von 20 (80%) Kontroll-Patienten konnten bis 24 Monate nach Transplantation nachbeobachtet werden. Zu den Zeitpunkten 3/6/12 und 18 Monate nach Transplantation befanden jeweils 18/17/14 und 14 WOFIE- sowie 17/16/16 und 16 Kontroll-Patienten in der Nachbeobachtung.

4.1.1 Demographische Empfängerdaten

Die demographischen Empfängerdaten sind in Tabelle 4.1 zusammengestellt. Beide Behandlungsgruppen waren hinsichtlich Empfängeralter, ethnischer Zugehörigkeit, Geschlecht, vorliegender Grunderkrankung, kalter Ischämiezeit sowie Anzahl präformierter Antikörper vergleichbar. Das Patientenkollektiv der WOFIE-Gruppe setzte sich aus 8 Frauen und 12 Männern mit einem durchschnittlichen Alter von $50,8 \pm 16,4$ Jahren (23,0-72,0 Jahre) zusammen. Die Kontroll-Gruppe bestand ebenfalls aus 12 Männern und 8 Frauen. Das durchschnittliche Alter der Patienten betrug hier $51,1 \pm 13,1$ Jahre (25,0-70,0 Jahre). Ein Kontroll-Patient war türkischer, die übrigen Studienpatienten westeuropäischer Abstammung. Fünf Patienten der WOFIE- und 3 Patienten der Kontroll-Gruppe waren zum Zeitpunkt der Transplantation älter als 65 Jahre und erhielten im Rahmen des Old-for-old-Programms von Eurotransplant ein Spenderorgan eines >65-jährigen Spenders. Zwei Patienten der WOFIE- und 1 Patient der Kontroll-Gruppe erhielten im Rahmen der Studie ihr 2. Nierentransplantat. Vor der Transplantation waren alle Studienteilnehmer dialysepflichtig (durchschnittliche Dialyседauer in der WOFIE-Gruppe $50,9 \pm 28$ Monate (12-105 Monate) versus $68,0 \pm 27$ Monate (24-117 Monate) in der Kontroll-Gruppe, $P=0,561$, nicht signifikant im T-Test für unpaarige Variablen). Unter den der terminalen Niereninsuffizienz zugrunde liegenden Erkrankungen dominierten die Glomerulonephritiden (35% der WOFIE- und 35% der

7. Literaturverzeichnis

Kontroll-Gruppe). Die übrigen Grunderkrankungen setzten sich wie folgt zusammen: diabetische Nephropathie (2 WOFIE-Patienten), interstitielle Nephritis (2 WOFIE-/2 Kontroll-Patienten), chronische Pyelonephritis (2 WOFIE-/3 Kontroll-Patienten), hypertensive Nephropathie (1 WOFIE-/3 Kontroll-Patienten) und polyzystische Nierenerkrankungen (3 WOFIE- /2 Kontroll-Patienten). Ein WOFIE-Patient litt unter einem Alport-Syndrom, 1 Patient der Kontroll-Gruppe wies Schrumpfnieren auf. Bei 2 Patienten der Kontroll-Gruppe war der Grund für den Verlust der Nierenfunktion unbekannt.

Tabelle 4.1 *Demographie der Empfängerdaten*

Merkmal	WOFIE	Kontrolle	P-Wert
	(n=20)	(n=20)	
Alter [Jahre]			0,957 ^a
M ± SD	50,8 ± 16,4	51,1 ± 13,1	
Spannweite	23-72	25-70	
Geschlecht [n (%)]			1,252 ^b
Männlich	12 (60,0%)	12 (60,0%)	
Ethnische Zugehörigkeit [n (%)]			0,467 ^b
Weiss	20 (100%)	19 (95,0%)	
Schwarz			
Orientalisch		1 (5,0%)	
Dialysedauer [Monate]	50,9 ± 28	68,0 ± 27	0,561 ^a
Spannweite	12-105	24-117	
Grunderkrankung [n (%)]			0,309 ^c
Glomerulonephritis	7 (35,0%)	7 (35,0%)	
Diabetische Nephropathie	2 (10,0%)		
IgA-Nephropathie	2 (10,0%)		
Interstitielle Nephritis	2 (10,0%)	2 (10,0%)	
Hypertensive Nephropathie	1 (5,0%)	3 (15,0%)	
Polyzystische Nierenerkrankung	3 (15,0%)	2 (10,0%)	
Pyelonephritis	2 (10,0%)	3 (15,0%)	
Alport-Syndrom	1 (5,0%)		
Unbekannt		3 (15,0%)	
Vorbestehende Begleiterkrankungen			
Diabetes [n (%)]	2 (10%)	4 (20%)	0,014^c
Insulin-abhängig	2 (10,0%)		
Nicht-Insulin-abhängig		4 (20,0%)	
Bluthochdruck [n (%)]	18 (90,0%)	17 (85,0%)	1,000 ^b
Hyperlipoproteinämie [n (%)]	5 (25,0%)	14 (70,0%)	0,01^b
Koronare Herzkrankheit	8 (40%)	10 (50%)	0,751 ^b
Retransplantationen [n (%)]	2 (10,0%)	1 (5,0%)	1,000 ^b

7. Literaturverzeichnis

HLA-Mismatch [M ± SD]	1,9 ± 1,7	2,3 ± 2,2	0,042^c
Präformierte Antikörper (<10%/>10%)	4/16	2/18	0,661 ^b

^a T-Test für unpaarige Variablen

^b Fisher's exact Test

^c Chi-Quadrat Test

Während beide Gruppen bezüglich einer vorbestehenden Bluthochdruckerkrankung (90% der WOFIE- und 85% der Kontroll-Gruppe, P=1,000 nicht signifikant im Fisher's exact Test) korrelierten, fanden sich in der Kontroll-Gruppe deutlich mehr Patienten mit einem Diabetes mellitus Typ 2 (4 Patienten im Kontroll- versus 2 Patienten im WOFIE-Arm, P=0,04, signifikant, im Chi Quadrat Test) sowie mit einer vorbestehenden Hyperlipoproteinämie (14 Patienten im Kontroll- versus 5 Patienten im WOFIE-Arm, P=0,01, signifikant im Fisher's exact Test). Symptome einer koronaren Herzerkrankung, zum Teil bereits operativ therapiert, fanden sich bei 8 Patienten des WOFIE- und 10 Patienten des Kontroll-Armes, P=0,751, nicht signifikant im Fisher's exact Test. Sämtliche Begleiterkrankungen wurden protokolliert und vor allem in Hinblick auf die kardiovaskulären Nebenwirkungen immunsuppressiver Therapie in der Ergebnisauswertung berücksichtigt (s. Abschnitt 4.6). Während sich die Serumspiegel präformierter lymphozytotoxischer Antikörper, die bei jedem gelisteten potentiellen Nierenempfänger des Transplantationszentrums des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, im 8-wöchigen Abstand bestimmt werden, in beiden Untersuchungsgruppen nicht unterschieden (Serumspiegel präformierter Antikörper <10%/>10% 4/16 Patienten der WOFIE versus 2/18 Patienten der Kontroll-Gruppe, P=0,661, nicht signifikant im Fisher's exact Test), wiesen die Kontroll-Patienten im Vergleich zu den WOFIE-Patienten signifikant mehr HLA-Mismatches auf (2,3 ± 2,2 HLA-Mismatches in der Kontroll- versus 1,9 ± 1,7 HLA-Mismatches in der WOFIE-Gruppe, P=0,04, signifikant im Chi Quadrat Test).

4.1.2 Demographische Spenderdaten

Die demographischen Spenderdaten sind in Tabelle 4.2 zusammengestellt. Durchschnittliches Spenderalter, Geschlechterverteilung und Todesursache unterschieden sich nicht signifikant zwischen beiden Untersuchungsgruppen (durchschnittliches Spenderalter in der WOFIE-

7. Literaturverzeichnis

Gruppe $57,4 \pm 11,9$ Jahre versus $49,8 \pm 16,9$ Jahre in der Kontroll-Gruppe; Geschlechterverteilung männlich:weiblich 9:11 in der WOFIE- versus 8:12 in der Kontroll-Gruppe). Bei 14 von 20 Spendern der WOFIE-Gruppe und bei 10 von 20 Spendern der Kontroll-Gruppe war eine cerebrale Blutung (subarachnoidal/intracerebral) als Todesursache im Protokoll angegeben worden. Vier von 20 Spendern der WOFIE-Gruppe und 6 von 20 Spendern der Kontroll-Gruppe verstarben an einem Schädelhirntrauma. Bei einem Spender in der Kontroll-Gruppe wurde als Todesursache eine Theophyllinintoxikation angegeben. Bei 2 weiteren Spendern der Kontroll-Gruppe war eine zerebrale Hypoxie unklarer Genese als Todesursache angegeben. Ein Spender der WOFIE- und 1 Spender der Kontroll-Gruppe erlitten einen Hirninfarkt. Diureseleistung und renale Funktionsparameter der Spender beider Untersuchungsgruppen korrelierten und lagen im Normbereich. So betrug die durchschnittliche Diureseleistung/24 Stunden der Spender der WOFIE-Gruppe $3684,0 \pm 1746,4$ ml/24 Stunden, die der Spender des Kontroll-Armes $3288,0 \pm 1511,0$ ml, $P=0,148$, nicht signifikant im T-Test für unpaarige Variablen. Die durchschnittliche Diuresemenge der letzten Stunde lag bei $216,0 \pm 144$ ml (50-600 ml/letzte Stunde) in der Spendergruppe des WOFIE- und bei $302,0 \pm 316$ ml (30-1500 ml/letzte Stunde) in der Spendergruppe des Kontroll-Armes, $P=0,320$, nicht signifikant im T-Test für unpaarige Variablen.

Tabelle 4.2 *Demographie der Spender- und Operationsdaten*

Merkmal	WOFIE (n=20)	Kontrolle (n=20)	P-Wert
<u>Spender</u>			
Alter [Jahre]			0,108 ^a
M \pm SD	$57,4 \pm 11,9$	$49,8 \pm 16,9$	
Spannweite	35-78	19-79	
Geschlecht [n (%)]			1,000 ^b
Männlich	9 (45,0%)	8 (40,0%)	
Todesursache			0.400 ^c
Cerebrale Blutung	14	10	
Schädelhirntrauma	4	6	
Theophyllinintoxikation		1	
Hypoxie		2	
Hirnsult	1	1	

7. Literaturverzeichnis

Diurese			
Diurese/24 Stunden [ml/24 Stunden]			
M ± SD	3684,0 ± 1746	3288,0 ± 1511	0,148 ^a
Diurese letzte Stunde [ml/Stunde]			
M ± SD	216,0 ± 144	302,0 ± 316	0,320 ^a
Spannweite [ml/Stunde]	50-600	30-1500	
Serumkreatinin [mg/dl]			0,250 ^a
M ± SD	1,15 ± 0,47	0,96 ± 0,52	
Spannweite [mg/dl]	0,6-1,9	0,4-2,13	
Serumharnstoff [mg/dl]			0,651 ^a
M ± SD	42,1 ± 20,35	38,7 ± 19,52	
Spannweite [mg/dl]	11-73	15-89	
Operationdaten			
Operationsdauer [Minuten]			0,632 ^a
M ± SD	189 ± 36	183 ± 49	
Kalte Ischämiezeit			0,589 ^a
M ± SD [Minuten]	1010 ± 282	960 ± 320	
M ± SD [Stunden]	16,54 ± 4,42	16,00 ± 5,20	
Spannweite [Stunden]	9-28	6-27	
Warme Ischämiezeit			0,402 ^a
M ± SD [Minuten]	52 ± 18	47 ± 15	
Spannweite [Minuten]	32-95	22-80	

^a T-Test für unpaarige Variablen

^b Fisher's exact Test

^c Chi-Quadrat Test

Die durchschnittlichen Kreatininwerte im Serum der Spender der WOFIE-Gruppe betragen $1,15 \pm 0,47$ mg/dl ($0,6-1,9$ mg/dl), die der Spender des Kontroll-Armes $0,96 \pm 0,52$ mg/dl ($0,4-2,13$ mg/dl), $P=0,250$, nicht signifikant im T-Test für unpaarige Variablen. Die durchschnittlichen Serumharnstoffwerte der Spender der WOFIE-Gruppe lagen bei $42,1 \pm 20,35$ mg/dl ($11-73$ mg/dl), die der Spender des Kontroll-Armes bei $38,7 \pm 19,52$ mg/dl ($15-89$ mg/dl), $P=0,651$, nicht signifikant im T-Test für unpaarige Variablen. Die im Rahmen der Spenderevaluation geforderten virologischen Untersuchungen (HIV, Hepatitis B- und C-Virus) waren in beiden Gruppen ohne pathologischen Befund. Auf den erhobenen CMV Status wird in Tabelle 4.3 eingegangen.

4.1.3 Demographie der Operationsdaten

Beide Untersuchungsgruppen waren bezüglich der durchschnittlichen Operationsdauer (189 ± 36 Minuten (130-270 Minuten) in der WOFIE- versus 183 ± 49 Minuten (130-330 Minuten) in der Kontroll-Gruppe ($P=0,632$, nicht signifikant im T-Test für unpaarige Variablen), der kalten Ischämiezeit (1010 ± 282 Minuten (9,0-28,0 Stunden) in der WOFIE- versus 960 ± 320 Minuten (6,0-27,0 Stunden) in der Kontroll-Gruppe ($P=0,589$, nicht signifikant im T-Test für unpaarige Variablen) und der warmen Ischämiezeit (52 ± 18 Minuten (32-95 Minuten) in der WOFIE- versus 47 ± 15 Minuten (22-80 Minuten) in der Kontroll-Gruppe ($P=0,402$, nicht signifikant im T-Test für unpaarige Variablen) vergleichbar (s. Tabelle 4.2).

4.2 Patienten- und Transplantatüberleben

Patienten- und Transplantatüberleben waren in beiden Behandlungsgruppen vergleichbar. In der Kontroll-Gruppe überlebten alle Patienten, in der WOFIE-Gruppe lag das Patientenüberleben bei 95%. Ein WOFIE-Patient verstarb 18 Wochen nach Transplantation außerhalb des Zentrums an einer generalisierten, unbehandelten Cytomegalie-Virus-Erkrankung. Das Transplantatüberleben betrug 90% im WOFIE- und 95% im Kontroll-Arm. Die für den Verlust des Transplantats zugrunde liegende Ursache war bei 2 Patienten (1 WOFIE/1 Kontrolle) eine Thrombosierung der Transplantatgefäße 2 und 4 Tage nach Transplantation. Ein weiterer Patient aus der WOFIE-Gruppe verlor sein Nierentransplantat im Rahmen einer Cytomegalie-Virus-Erkrankung 4 Monate nach Transplantation. Es wurden keine Organverluste auf dem Boden einer initialen Nichtfunktion oder als Folge einer akuten Abstoßungsreaktion beobachtet. Die Aufzählung der Transplantatverluste findet sich in Tabelle 4.3 wieder.

4.3 Immunsuppression

Eingeschlossen in die nachfolgende Bewertung der immunsuppressiven Therapie wurden alle Patienten, welche für mindestens 4 Monate nach Transplantation nachbeobachtet werden konnten und somit ihrer Steroidmedikation entzogen wurden. Patienten, welche vor Ablauf von 4 Monaten nach Transplantation aus der Studie ausgeschlossen werden mussten, wurden nicht berücksichtigt.

4.3.1 Steroide und steroidfreie Dauermedikation

Insgesamt 18 von 20 (90%) Patienten der WOFIE- und 17 von 20 (85%) Patienten der Kontroll-Gruppe konnten für mindestens 4 Monate nach Transplantation nachbeobachtet werden. Der Entzug der Steroidmedikation erfolgte über 4-8 Wochen. Während 17 von 18 (94,4%) WOFIE-Patienten nach Absetzen der Steroide dauerhaft steroidfrei blieben, gelang ein dauerhafter Steroidentzug nur bei 13 von 17 (76,5%) Kontroll-Patienten, $P=0,177$, nicht signifikant im Fisher's exact Test, siehe Abbildung 4.1. Aufgrund wiederholter steroidsensitiver Abstoßungsreaktionen benötigten 1 Patient, welcher in den WOFIE-Arm randomisiert war, nach 6 Monaten und 4 Kontroll-Patienten nach 5 ($n=2$) und 10 ($n=2$) Monaten erneut eine permanente Steroidmedikation.

Abbildung 4.1 *Steroidfreie Dauermedikation in Abhängigkeit vom immunsuppressiven Protokoll (WOFIE- versus Kontroll-Arm)*

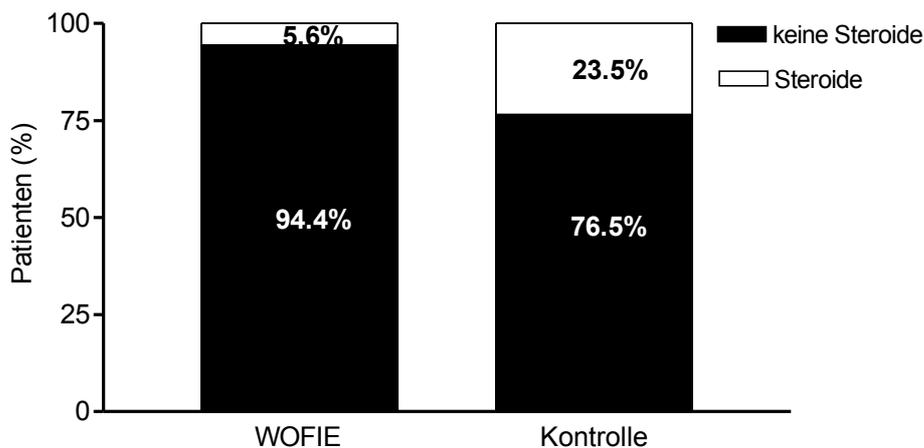


Abb. 4.1 zeigt den prozentualen Anteil nierentransplantierte Patienten, bei denen die Steroide erfolgreich 12 bis 16 Wochen nach Transplantation ausgeschlichen werden konnten. Während 94,4% (17 von 18) der WOFIE-Patienten für die Dauer des Beobachtungszeitraumes steroidfrei blieben, gelang eine steroidfreie Dauermedikation nur bei 76,5% (13 von 17) der in die Kontroll-Gruppe randomisierten Patienten, $P=0,177$, nicht signifikant im Fisher's exact Test.

4.3.2 Tacrolimus

Der im Studienprotokoll für beide Untersuchungsgruppen vorgegebene Zielbereich des Tacrolimustalspiegel sollte ab dem 8. postoperativen Tag im Niedrigdosisbereich (5-8 ng/ml)

liegen. Die im Beobachtungszeitraum bis 24 Monate nach Transplantation erfassten durchschnittlichen Tacrolimustalspiegel des WOFIE- und des Kontroll-Armes können Tabelle 2 im Anhang entnommen werden und sind in Abbildung 4.2 graphisch dargestellt. Die Tacrolimusblutspiegel lagen im Zeitraum von 2 Wochen bis 24 Monate nach Transplantation in der WOFIE-Gruppe zwischen $6,8 \pm 1,3$ und $9,3 \pm 3,6$ ng/ml und in der Kontroll-Gruppe zwischen $7,0 \pm 1,4$ und $9,4 \pm 3,6$ ng/ml und zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Behandlungsgruppen (mittlere Tacrolimusblutspiegel $7,7 \pm 0,7$ ng/ml (WOFIE) versus $8,1 \pm 0,8$ ng/ml (Kontrolle) Tag 14 bis 24 Monate nach Transplantation, $P=0,114$, nicht signifikant im T-Test für unpaarige Variablen).

Abbildung 4.2 Tacrolimusblutspiegel in Abhängigkeit vom immunsuppressiven Protokoll

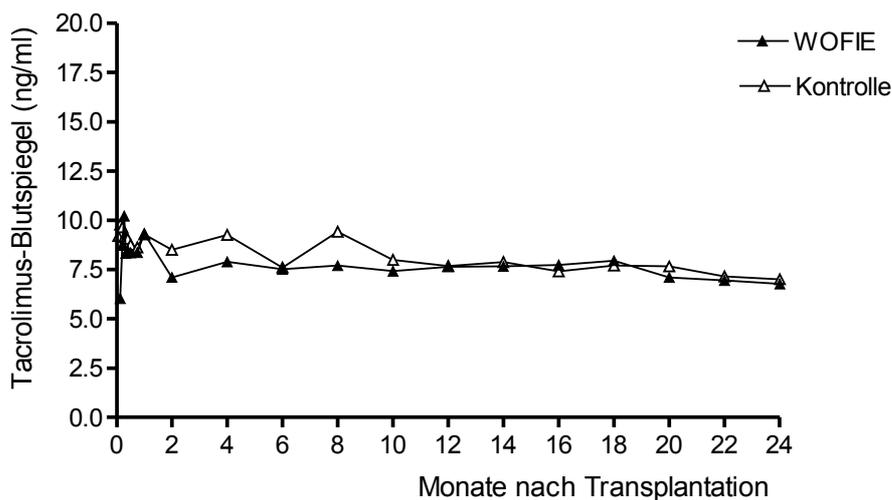


Abb. 4.2 zeigt die im Beobachtungszeitraum bis 24 Monate nach Transplantation erfassten durchschnittlichen Tacrolimusblutspiegel (ng/ml) in Abhängigkeit vom gewählten immunsuppressiven Protokoll (WOFIE versus Kontrolle). Diese lagen im vorgegebenen Zielbereich und zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Behandlungsgruppen, $P=0,114$, nicht signifikant im T-Test für unpaarige Variablen.

4.3.3 Mycophenolat Mofetil (MMF)

Die tägliche Dosierung von MMF variierte in Abhängigkeit von den beobachteten klinischen und laborchemischen Nebenwirkungen zwischen 0,5 und 2 g/Tag. Sie lag im Mittel während des erfassten Beobachtungszeitraumes von 2 Jahren zwischen $0,5 \pm 0,3$ und $1,7 \pm 0,5$ g/Tag in

der WOFIE- und zwischen $0,4 \pm 0,5$ und $1,9 \pm 0,3$ g/Tag in der Kontroll-Gruppe und zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Behandlungsgruppen. Bei 4 Patienten (3 Kontrolle, 1 WOFIE) musste die Immunsuppression mit MMF aufgrund einer hierdurch aufgetretenen schweren Leukopenie abgesetzt werden. Zwei Patienten der Kontroll-Gruppe wurden erfolgreich auf Azathioprin umgesetzt, die anderen beiden Patienten (1 WOFIE-, 1 Kontroll-Patient) verblieben unter niedrig dosierter Tacrolimusmonotherapie bei stabiler Organfunktion.

4.3.4 Daclizumab

Die Gabe des IL-2 Rezeptorantikörpers Daclizumab erfolgte in beiden Behandlungsgruppen zu den im Studienprotokoll vorgegebenen Zeitpunkten (präoperativ sowie 2, 4, 6 und 8 Wochen nach Transplantation). Es wurden keine Unverträglichkeitsreaktionen beobachtet.

4.4 Transplantatfunktion

4.4.1 Dialysebehandlung

Die Indikation zur Dialyse wurde bei Einbruch der Diurese, Anstieg der Retentionsparameter (Serumharnstoff und -kreatinin), Elektrolytentgleisung von Natrium und Kalium, schwerer Hypertonie oder bei Entwicklung einer metabolischen Azidose) gestellt. Nach erfolgter Transplantation mussten 17 von 20 (85%) WOFIE- und 18 von 20 (90%) Kontroll-Patienten mindestens einmal dialysiert werden. Bei elf von 17 (65%) WOFIE- und 11 von 18 (60%) Kontroll-Patienten erfolgte die Dialysebehandlung nur innerhalb der ersten 7 Tage nach Transplantation. Die übrigen Patienten (6 WOFIE/7 Kontrolle) wurden mehr als 7 Tage nach Transplantation, jedoch längstens bis zum 21. Tag nach Transplantation dialysiert. Die durchschnittliche Anzahl notwendiger Dialysebehandlungen lag in der WOFIE- bei $2,8 \pm 2,1$ und in der Kontroll-Gruppe bei $3,3 \pm 2,8$, $P=0,561$, nicht signifikant im T-Test für unpaarige Variablen. Die durchschnittliche Dialysedauer betrug in der WOFIE- $7,4 \pm 6,1$ Tage und in der Kontroll-Gruppe $7,2 \pm 4,1$ Tage und unterschied sich ebenfalls nicht signifikant zwischen beiden Behandlungsgruppen, $P=0,981$, nicht signifikant im T-Test für unpaarige Variablen.

4.4.2 Renale Retentionsparameter

Im erfassten Beobachtungszeitraum von 24 Monaten nach Transplantation wurde die Organfunktion aufgrund der regelmäßig bestimmten Kreatinin- und Harnstoffwerte im peripheren Blut beurteilt. Während der ersten 6 postoperativen Monate war die Transplantatfunktion unabhängig vom immunsuppressiven Protokoll in beiden Gruppen vergleichbar. Dahingegen fanden sich nach einem halben Jahr in der WOFIE-Gruppe signifikant niedrigere Serumkreatinin und –harnstoffwerte als in der Kontroll-Gruppe, deren Immunsuppression initial nicht unterbrochen wurde, $P < 0,0001$, signifikant im T-Test für unpaarige Variablen. Die mittleren Serumkreatinin-/–harnstoffwerte 6, 12, 18 und 24 Monate nach Transplantation lagen bei $1,4 \pm 0,4/66 \pm 37$, $1,4 \pm 0,5/55 \pm 19$, $1,5 \pm 0,4/58 \pm 16$ und $1,5 \pm 0,4/52 \pm 14$ mg/dl in der WOFIE- und $1,7 \pm 0,6/66 \pm 37$, $1,6 \pm 0,6/68 \pm 25$, $1,7 \pm 0,7/68 \pm 38$, $1,9 \pm 0,7/65 \pm 27$ mg/dl in der Kontroll-Gruppe.

Abbildung 4.3 A+B *Renale Retentionsparameter in Abhängigkeit vom immunsuppressiven Protokoll (WOFIE versus kontinuierliche Immunsuppression)*

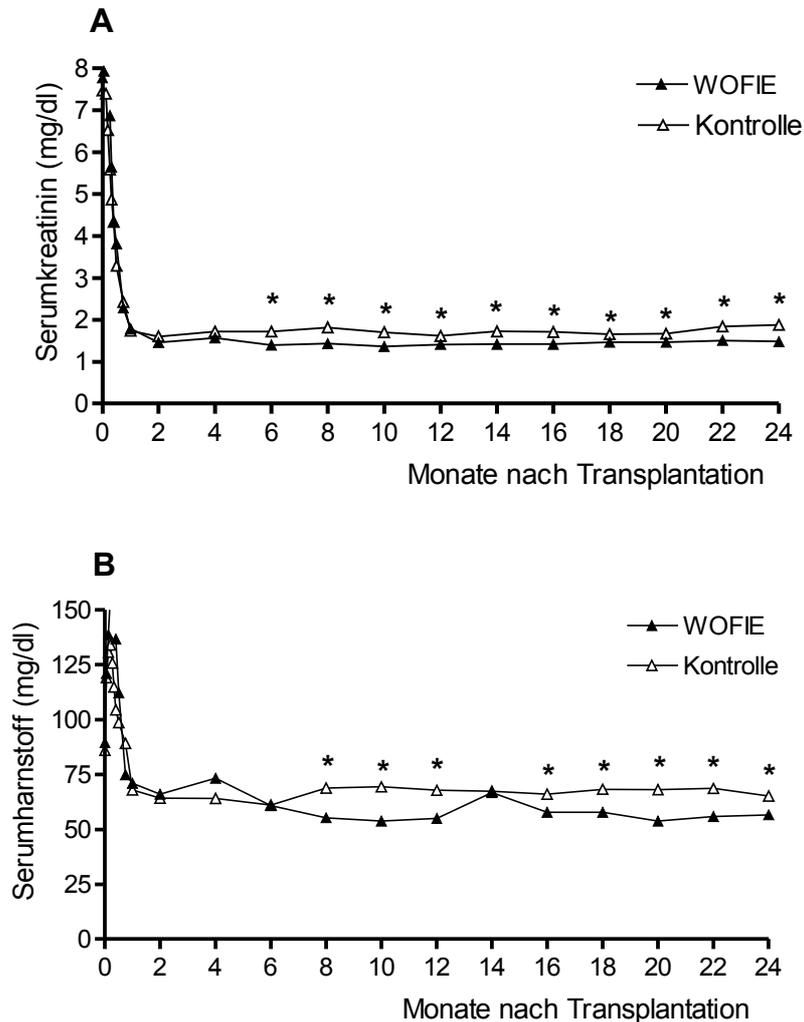


Abb. 4.3 A+B zeigen die Mittelwerte \pm Standardabweichung (SD) (mg/dl) der im Beobachtungszeitraum erfassten Serumkreatinin (A)- und Harnstoffwerte (B). Während der ersten 6 postoperativen Monate war die Transplantatfunktion unabhängig vom immunsuppressiven Protokoll in beiden Gruppen vergleichbar. Dahingegen zeigten Patienten, deren immunsuppressive Therapie initial für 72 Stunden unterbrochen wurde, im weiteren postoperativen Verlauf signifikant niedrigere Serumkreatinin- und -harnstoffwerte als die kontinuierlich immunsupprimierte Kontroll-Gruppe ($P < 0,0001^*$).

Insgesamt zeigten 2 WOFIE-Patienten und 5 Patienten aus der Kontroll-Gruppe während des Beobachtungszeitraumes einen Anstieg ihrer Retentionsparameter. Die Verschlechterung der renalen Funktion begründete sich bei 1 Patienten (WOFIE) in einer bioptisch gesicherten Rekurrenz einer IgA-Nephritis 12 Monate nach Transplantation und bei 1 weiteren Patienten

(Kontrolle) in dem bioptischen Nachweis einer mesangioproliferativen Glomerulonephritis im Transplantat nach 18 Monaten. Zwei Patienten (1 WOFIE, 1 Kontrolle) entwickelten einen Serumkreatininanstieg nach Einleitung einer Therapie mit Bisphosphonaten. Drei Patienten aus der Kontroll-Gruppe verblieben nach 2 steroidsensiblen akuten Abstoßungsreaktionen auf erhöhten, jedoch im weiteren Verlauf auf stabilen Serumkreatininwerten. Die mittleren Serumkreatinin- und -harnstoffwerte während des erfassten Beobachtungszeitraumes von 2 Jahren sind für beide Behandlungsgruppen in den Abbildungen 4.3 A + B dargestellt.

4.5 Inzidenz akuter Transplantatabstoßungen

Das Ereignis einer akuten Transplantatabstoßung in den beiden Studiengruppen wurde anhand klinischer und histopathologischer Kriterien nach der modifizierten Banff-Klassifikation diagnostiziert (Abbildung 4.4). Die initiale Unterbrechung der Immunsuppression in der WOFIE- führte gegenüber der Kontroll-Gruppe zu einer deutlichen Minderung akuter Transplantatabstoßungen. Während in der WOFIE-Gruppe die Rate akuter primärer Abstoßungen bei 10% lag, wurde in der Kontroll-Gruppe mit 30% eine deutlich höhere Abstoßungsrate vermerkt, $P=0,100$, nicht signifikant im Chi Quadrat Test.

Abbildung 4.4 Inzidenz akuter Transplantatabstoßungen in Abhängigkeit vom immunsuppressiven Protokoll

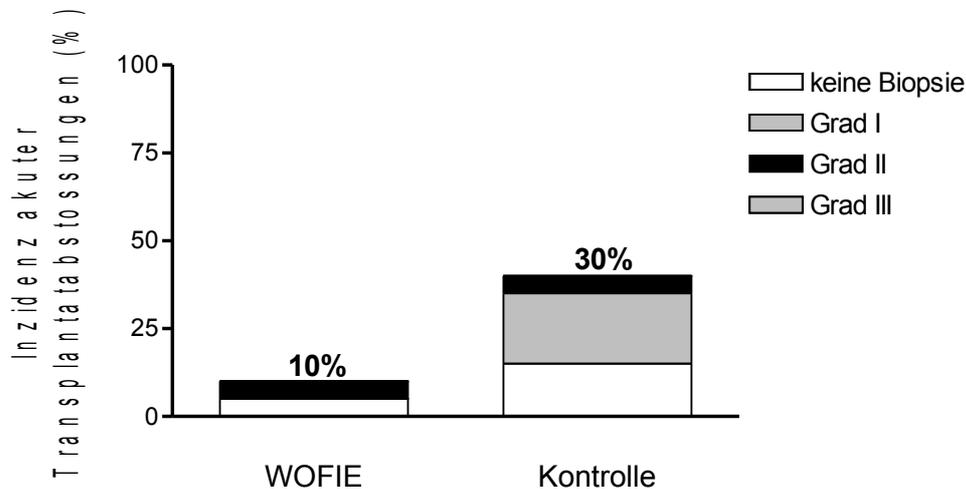


Abb. 4.4 zeigt die Inzidenz primärer akuter Transplantatabstoßungen in Abhängigkeit vom immunsuppressiven Protokoll (WOFIE/Kontrolle). Die initiale Unterbrechung der Immunsuppression führte zu einer deutlichen Minderung akuter Abstoßungen (10% in der WOFIE versus 30% in der Kontroll-Gruppe). Sieben von 8 Abstoßungsepisoden traten innerhalb der ersten zwölf Wochen nach Transplantation auf und stehen in keinem kausalen Zusammenhang mit dem Ausschleichen der Steroidmedikation, $P=0,100$, nicht signifikant im Chi Quadrat Test.

Drei Kontroll-Patienten zeigten eine milde, steroidsensible Abstoßungsreaktion (Grad I nach der Banff-Klassifikation). Zwei Patienten (1 WOFIE, 1 Kontrolle) entwickelten 4 und 7 Tage nach Transplantation eine moderate, steroidresistente Transplantatabstoßung (Grad II nach der Banff-Klassifikation), welche erfolgreich mit ATG behandelt wurde. Beide Patienten wurden daraufhin von der Studie ausgeschlossen. Bei 2 Patienten (1 WOFIE, 1 Kontrolle), welche klinisch den dringenden Verdacht auf eine akute Transplantatabstoßung boten, konnte aufgrund einer oralen Antikoagulation keine Biopsie durchgeführt werden. Bei einem weiteren Kontroll-Patienten war die Nierenbiopsie histologisch nicht auswertbar. Alle 3 Patienten reagierten auf eine Steroidbehandlung, weshalb sie aufgrund der eindeutigen klinischen Symptomatik als Abstoßung gewertet wurden. Sieben von 8 Abstoßungsepisoden traten innerhalb der ersten 12 Wochen nach Transplantation auf und standen somit nicht mit der Unterbrechung der Steroidmedikation in einem kausalen Zusammenhang.

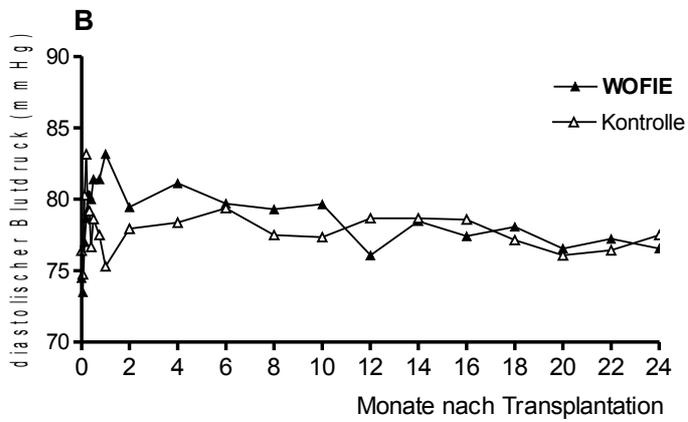
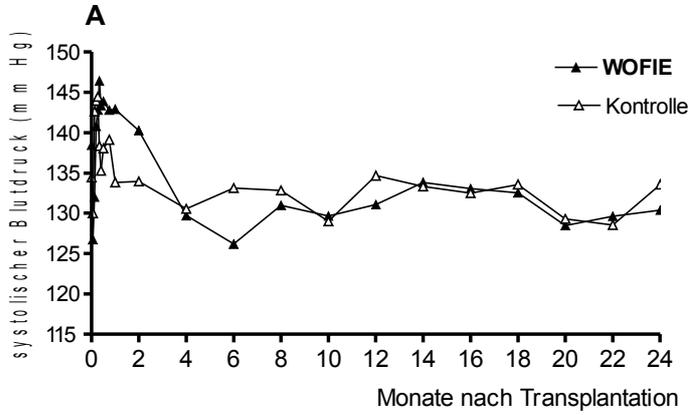
4.6 Metabolische Effekte

Das kardiovaskuläre Risikoprofil transplantierte Patienten wird maßgeblich durch die 3 Faktoren Hypertonus, Hyperglykämie/Diabetes mellitus und Hyperlipoproteinämie bestimmt. Um den Einfluß des immunsuppressiven Protokolls auf die genannten Risikofaktoren zu untersuchen, wurden 14 WOFIE- und 16 Kontroll-Patienten miteinbezogen, welche für mindestens 6 Monate nach Transplantation nachbeobachtet werden konnten. Da alle Studienteilnehmer laut Studienprotokoll eine antilipämische Medikation mit Fluvastatin (Locol®) erhielten, wurden die Auswirkungen der immunsuppressiven Therapie auf den Fettstoffwechsel nicht beurteilt.

4.6.1 Hypertonus

Um den Einfluß einer steroidfreien, niedrig dosierten Dauerimmunsuppression auf die Inzidenz und den Schweregrad einer arteriellen Hypertonie zu untersuchen, erfolgten zu den vorgegebenen Untersuchungszeitpunkten jeweils Blutdruckmessungen nach Riva Rocci sowie die genaue Protokollierung von Anzahl und Dosis notwendiger Antihypertensiva. Die mittleren systolischen und diastolischen Blutdruckwerte der in der Auswertung berücksichtigten Patienten beider Untersuchungsgruppen sind in den Abbildungen 4.5 A und B graphisch dargestellt und der Anhangstabelle 3 zu entnehmen. Die mittleren systolischen und diastolischen Blutdruckwerte aller Patienten lagen unabhängig vom gewählten immunsuppressiven Protokoll im therapeutischen Bereich und zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Behandlungsgruppen (die mittleren systolischen/diastolischen

Abbildung 4.5 A, B+C Inzidenz und Schweregrad eines Hypertonus in Abhängigkeit vom gewählten immunsuppressiven Protokoll



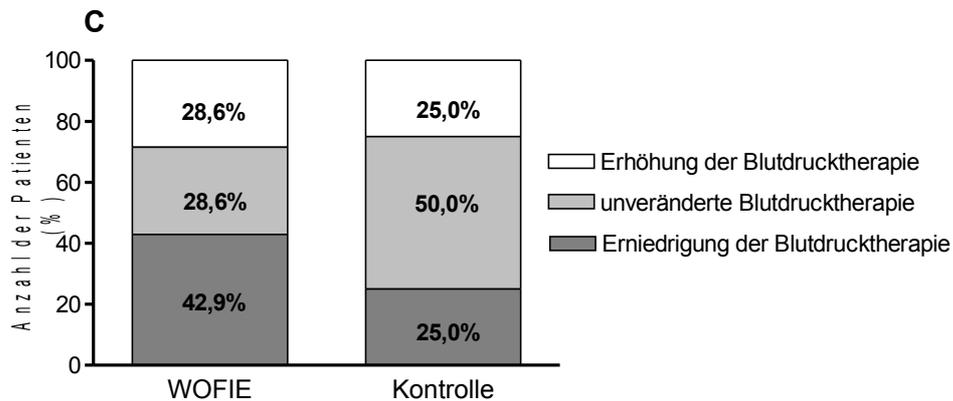


Abb. 4.5 A+B zeigen die Mittelwerte der systolischen (mmHg) (A) und diastolischen (mmHg) (B) Blutdruckwerte im erfassten Beobachtungszeitraum in Abhängigkeit vom immunsuppressiven Protokoll. **Abb. 4.5 C** stellt den Verlauf der 6 Monate nach Transplantation benötigten antihypertensiven Medikation in beiden Untersuchungsgruppen dar. In beiden Untersuchungsgruppen lagen die gemessenen systolischen und diastolischen Blutdrücke im erfassten Beobachtungszeitraum von 2 Jahren im therapeutischen Bereich und unterschieden sich nicht signifikant zwischen beiden Untersuchungsgruppen. Während jedoch bei 42,9% der WOFIE-Patienten die antihypertensive Therapie im Verlauf reduziert werden konnte, gelang dieses nur bei 25% der Kontroll-Patienten.

Blutdruckwerte 6 bis 24 Monate nach Transplantation lagen in der WOFIE-Gruppe bei $135,6 \pm 6,73/78,5 \pm 2,24$ mmHg und bei $133,8 \pm 4,79/78,5 \pm 1,9$ mmHg in der Kontroll-Gruppe. Während jedoch bei 6 von 14 (42,9%) der WOFIE-Patienten die antihypertensive Medikation erfolgreich reduziert werden konnte, gelang eine erfolgreiche Reduktion der Antihypertensiva nur bei 25% (4/16) der Kontroll-Patienten (s. Abbildung 4.5 C). Bei 28,6% der WOFIE- und bei 50% der Kontroll-Patienten blieben Dosis bzw. Anzahl der Antihypertensiva nach erfolgter Nierentransplantation unverändert. Bei jeweils 4 Patienten/Behandlungsgruppe mussten Dosis oder Anzahl der antihypertensiven Medikamente erhöht werden, da sie nach Transplantation eine Verschlechterung des Blutdruckes erfuhren.

4.6.2 Hyperglykämie/Diabetes mellitus

Vor der Nierentransplantation war bei 2 WOFIE-Patienten ein insulinpflichtiger Diabetes mellitus bekannt. Vier Patienten der Kontroll-Gruppe zeigten prä-transplantationem einen nicht-insulinpflichtigen, diätetisch eingestellten Diabetes mellitus Typ 2. Bei keinem der WOFIE-Patienten kam es nach Transplantation zur Entwicklung eines Posttransplantations-

Diabetes. Die beiden Patienten des WOFIE-Armes, welche bereits vor Transplantation an einem insulinpflichtigen Diabetes mellitus litten, benötigten nach Transplantation keine Erhöhung ihrer Insulindosis. Dahingegen entwickelten 5 Patienten des Kontroll-Armes, darunter 3 mit bereits diätetisch eingestelltem Diabetes mellitus, nach Nierentransplantation einen insulinpflichtigen Posttransplantations-Diabetes, $P=0,047$, signifikant im Chi Quadrat Test. Zwei weitere Patienten des Kontroll-Armes zeigten nach Transplantation eine gestörte Glukosetoleranz, welche jedoch diätetisch eingestellt werden konnte. Nach Entzug der Steroide konnte bei 2 Patienten der Kontroll-Gruppe die Insulinmedikation auf ein orales Antidiabetikum umgestellt werden. Die Anzahl insulinpflichtiger Patienten wird in Tabelle 4.3 gezeigt.

4.7 Studienabbrüche und -zwischenfälle

Das Sicherheitsprofil beider Gruppen zeigte sich innerhalb des Beobachtungszeitraumes von 2 Jahren vergleichbar. Die einzelnen Studienzzwischenfälle sind in der nachfolgenden Tabelle 4.3 aufgeführt. Insgesamt 8 Patienten (3 WOFIE, 5 Kontrolle) zeigten Leukopenien und Diarrhoen als typische Nebenwirkung von MMF. Zwei von 4 Patienten, welche nicht auf eine Dosisreduktion von MMF ansprachen, wurden auf Azathioprin umgestellt, die beiden anderen Patienten verblieben auf einer Tacrolimus-Monotherapie. Drei weitere Patienten entwickelten trotz niedriger Tacrolimusblutspiegel einen schweren Tremor und mussten auf Cyclosporin A bzw. Rapamycin umgestellt werden. In 13 Fällen wurden steroidbedingte Nebenwirkungen wie Alopezie, Katarakt, Steroidakne, Achillodynie und aseptische Knochennekrosen dokumentiert.

Tabelle 4.3 *Inzidenz und Häufigkeit des Auftretens von Studienzzwischenfälle*

Studienzzwischenfälle	WOFIE (n= 20)	Kontrolle (n= 20)	P-Wert
Assoziiert mit			
Immunsuppression			
Neurotoxizität (Tremor)	2	1	1,000 ^b
Leukopenie	1	3	0,605 ^b
Diarrhoe	2	2	1,000 ^b

7. Literaturverzeichnis

Alopezie	4		0,106 ^b
Katarakt	3	2	1,000 ^b
Steroid-Akne		1	1,000 ^b
Achillodynie	1	1	1,000 ^b
Aseptische Knochennekrose	1		1,000 ^b
Diabetes mellitus Typ 2	0	5	0,047^c
(insulinpflichtig)			
Bluthochdruck	4	4	1,000 ^b
Nicht-assoziiert mit			
Immunsuppression			
Stenose der Ureteranastomose	1	3	0,605 ^b
Stenose/Thrombose der	1		1,000 ^b
Nierenvene			
Stenose der Nierenarterie		1	1,000 ^b
Hernie	2		0,487 ^b
Lymphozele		1	1,000 ^b
Thrombose/Shuntverschluß	2	3	1,000 ^b
Pankreatitis		1	1,000 ^b
Mesangioproliferative GN	1		1,000 ^b
Rekurrenz der IgA-Nephritis	1		1,000 ^b
Wundheilungsstörung	2		0,487 ^b
Oberschenkelhalsfraktur	1		1,000 ^b
Hyperparathyreodismus	2	1	1,000 ^b
Narbenneurinom	1		1,000 ^b
Infektionen			1,000 ^b
Soor (gastrointestinal)		3	0,231 ^b
Harnwegsinfekt (bakteriell)	12	10	0,751 ^b
Pneumonie (bakteriell)	1	1	1,000 ^b
Bronchopulmonaler Infekt	4	5	1,000 ^b
Cytomegalie-Virus	3	5	0,695 ^b
Herpes zoster	1		1,000 ^b

^b Fisher's exact Test

^c Chi-Quadrat-Test

Während die 5 Patienten mit Katarakt operativ behandelt wurden, waren die verbliebenen steroidbedingten Nebenwirkungen nach Absetzen der Steroide komplett reversibel. Auf die kardiovaskulären Nebenwirkungen sowie auf das Auftreten eines Posttransplantations-Diabetes als typische Nebenwirkung einer Tacrolimus- und Steroidmedikation wurde bereits unter den Abschnitten 4.6.1 und 4.6.2 eingegangen. Zwischenfälle, welche nicht mit der

Immunsuppression im kausalen Zusammenhang standen, wurden, wurden insgesamt 14-mal in der WOFIE und 12-mal in der Kontroll-Gruppe beobachtet. Sie beinhalteten chirurgische Komplikationen (Anastomosenstenosen von Ureter, Transplantatvene und -arterie; Hernien; eine Lymphozele sowie ein Narbenneurinom), die in 3 weiter unten im Text aufgeführten Fällen zum Transplantatverlust und somit zum Studienausschluß führten. Bei 2 weiteren Patienten aus der WOFIE-Gruppe kam es zu einer Verschlechterung der Transplantatfunktion durch Rekurrenz der Grunderkrankung (IgA-Nephropathie) sowie durch eine im Transplantat neu diagnostizierte mesangioproliferative Glomerulonephritis. Beide Studiengruppen zeigten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Inzidenz und Schwere von bakteriellen, mykotischen und viralen Infektionen. Bislange wurden in beiden Gruppen keine Malignomerkrankungen verzeichnet.

Vor Ablauf der vorgegebenen Beobachtungszeit von 24 Monaten mussten 10 von 40 Studienpatienten (25%) (6 WOFIE- und 4 Kontroll-Patienten) von der Studie ausgeschlossen werden. Ursache für einen Studienabbruch waren 3 Transplantatverluste aufgrund einer Thrombose der Transplantatgefäße (1 WOFIE/1 Kontrolle) sowie aufgrund einer schweren Cytomegalie-Virus-Infektion (1 WOFIE). Drei weitere Patienten (1 WOFIE, 2 Kontrolle), welche Tacrolimus-assoziierte neurologische Nebenwirkungen zeigten, wurden auf Cyclosporin A (1 WOFIE) bzw. Rapamycin (2 Kontrolle) umgestellt und somit von der Studie ausgeschlossen. Zwei Fälle einer steroidresistenten Abstoßung 4 (Kontrolle) und 7 Tage (WOFIE) nach Transplantation, welche mit ATG therapiert wurden, machten ebenfalls einen Studienausschluß erforderlich. Weitere Studienausschlüsse beinhalteten ein postoperativ manifestes Münchhausensyndrom sowie einen CMV-assoziierten Todesfall.

5. Diskussion

Die in der vorliegenden Arbeit dargestellte klinische Studie der Klinik für Allgemeine Chirurgie und Thoraxchirurgie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, an nierentransplantierten Patienten untersuchte erstmals das von R. Calne Mitte der 90-iger Jahre entwickelte WOFIE-Protokoll unter kontrollierten und randomisierten Bedingungen. Erste klinische Beobachtungen an Nieren- und vereinzelt auch an Lebertransplantierten Patienten unter Anwendung des anti-CD52-Antikörpers Campath 1H demonstrierten ein steroidfreies immunsuppressives Protokoll unter niedriger Cyclosporin A-Monotherapie (Calne et al. 1998). Da bei diesen Untersuchungen auf eine Kontroll-Gruppe verzichtet wurde, blieb bislang ungeklärt, ob sich die exzellenten klinischen Daten aus Cambridge auf die Einhaltung eines immunsuppressiven Fensters oder lediglich auf die Anwendung des hochpotenten und damals für die Transplantation noch nicht zugelassenen anti-CD52-Antikörpers begründeten. Des Weiteren sollte die Übertragung des WOFIE-Protokolls auf klinisch etablierte Immunsuppressiva wie den IL-2-Rezeptorantikörper Daclizumab untersucht werden. In der vorliegenden Studie durchgeführte engmaschige klinische, laborchemische und immunologische Untersuchungen an Patienten, welche nach dem WOFIE-Protokoll immunsupprimiert wurden, konnten im Vergleich zu einer kontinuierlich immunsupprimierten Kontroll-Gruppe erstmals diese Fragen beantworten.

Patienten- und Transplantatüberleben waren auch unter Einhaltung einer initialen immunsuppressiven Pause und unter Anwendung etablierter Immunsuppressiva (Daclizumab, MMF, Steroide und Tacrolimus) vergleichbar mit den 2-Jahresüberlebensdaten, welche von Eurotransplant im selben Zeitraum berichtet wurden. Die Auswertung der bei Eurotransplant registrierten nierentransplantierten Patienten (Opelz et al.: Collaborative Transplant Study 1995-2004) ergab in der Kohorte von 2000 bis 2003 ein Patientenüberleben von 95,6% nach dem ersten Jahr nach Transplantation mit einem Abfall auf 91,8% nach drei Jahren (Opelz et al.: Collaborative Transplant Study 1995-2004). Die Patientenüberlebensrate im angegebenen Beobachtungszeitraum betrug in der WOFIE-Gruppe 95%, in der Kontroll-Gruppe überlebten alle randomisierten Patienten. Ein WOFIE-Patient verstarb 4 Monate nach Transplantation an einer generalisierten Cytomegalie-Virus-Erkrankung. Dieser tödliche Ausgang einer CMV-

Infektion stand nicht im Zusammenhang mit der Wahl des immunsuppressiven Schemas, da eine antivirale Therapie erst verspätet ohne Benachrichtigung des Kieler Transplantationszentrums in einer peripheren Klinik eingeleitet worden war. Das durchschnittliche Transplantatüberleben amerikanischer Patienten nach einem Jahr betrug 2004 laut Magee und Pascual 88% (Magee und Pascual 2004). Vergleichbare Überlebensdaten berichtete die Collaborative Transplant Study-Group. Die Auswertung von Opelz et al. ergab ein durchschnittliches 1-Jahresüberleben von 89% in den ausgewerteten Kohorten von 1996 bis 2003 (Opelz et al.: Collaborative Transplant Study 1995-2004). In der Kieler Studie kam es bei 3 Patienten zu einem Transplantatverlust (Transplantatüberleben 90% in der WOFIE- und 95% in der Kontroll-Gruppe). Während die Hauptursache für den frühen Transplantatverlust in der Literatur primär in der akuten Transplantatabstoßung begründet ist (Salvadori M et al. 2003; [Lebranchu](#) et al. 2005), verloren 2 Patienten der vorliegenden Studie ihr Transplantat aufgrund einer chirurgischen Komplikation, einer Thrombose der Transplantatgefäße innerhalb der ersten 4 Tage nach Transplantation, und 1 Patient an einer CMV-Infektion. Damit stehen die Transplantatverluste nicht im Zusammenhang mit dem immunsuppressiven Protokoll. Sowohl Patienten- als auch das Transplantatüberleben bestätigen das WOFIE-Protokoll auch ohne Induktion mit dem hochpotenten Antikörper Campath 1H als ein sicheres immunsuppressives Schema.

Die initiale Unterbrechung der Immunsuppression für 72 Stunden ermöglichte mit einer Ausnahme allen Patienten, die Steroidmedikation innerhalb von 3 bis 4 Monaten abzusetzen und die immunsuppressive Therapie als niedrig-dosierte Dualtherapie mit MMF und Tacrolimus fortzuführen. Dahingegen mussten in der kontinuierlich immunsupprimierten Kontroll-Gruppe fast 25% der Patienten aufgrund einer akuten Rejektion erneut einer Steroidmedikation zugeführt werden. In der Regel ist bei nierentransplantierten Patienten das Risiko nach Steroidentzug eine akute Abstoßungsreaktion zu erleiden, deutlich erhöht (Pascual et al. 2004). Der Gruppe von Grinyo gelang es bei ausgewählten Patienten mit stabiler Transplantatfunktion erst zu einem deutlich späteren Zeitpunkt nach Transplantation, durchschnittlich nach 17 Monaten, das Cortison abzusetzen, ohne daß das Abstoßungsrisiko erhöht war (Grinyo et al. 1997). Wenige jüngere Arbeitsgruppen berichteten über einen Verzicht auf Steroide nach anti-T-Zell-Induktion, ohne daß die Patienten dabei einem

erhöhtem Abstoßungsrisiko ausgesetzt waren (Kandaswamy et al. 2005; Rostaing et al. 2005). Doch wurde in diesen Studien das Absetzen der Steroide auf Patienten mit niedrigem immunologischen Risikoprofil beschränkt, während in der hier dargestellten Kieler WOFIE-Studie keine Patientenselektion nach immunologischen Risikokriterien erfolgte. So handelte es sich bei 3 Studienpatienten (2 WOFIE-, 1 Kontroll-Patient) um eine Zweittransplantation. Bei 4 WOFIE- und 2 Kontroll-Patienten fanden sich vor Transplantation mehr als 10% präformierte Antikörper.

Multizentrische Studien konnten zeigen, daß die Inzidenz akuter Abstoßungen innerhalb der ersten 6 Monate auf durchschnittlich 20% gesenkt werden konnte (Sperschneider et al. 2003). Die Zahl akuter primärer Abstoßungen lag dagegen in der WOFIE-Gruppe mit 10% deutlich unter diesem Durchschnittswert, während in der Kontroll-Gruppe 30% der Patienten eine akute Abstoßung erlitten haben. Dabei muß in diesem Zusammenhang die Tatsache erwähnt werden, daß die Anzahl der HLA-Mismatches in der WOFIE-Gruppe niedriger war als in der Gruppe kontinuierlich immunsupprimierter Patienten. Das Transplantatlangzeitüberleben ist unter anderem auch von der Gewebeverträglichkeit des Spenderorgans und somit von der Anzahl der HLA-Matches und -Mismatches abhängig (Laux und Opelz 2004; Cecka 1997). Für die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie ist es jedoch unwahrscheinlich, daß der tolerogene Effekt des WOFIE-Protokolls durch diesen Faktor bedingt war. Zwar hat die Anzahl der HLA-Mismatches auch unter neuen immunsuppressiven Regimen einen entscheidenden Einfluß auf das Organüberleben, doch konnten die Daten von Ehrlich et al. eindeutig belegen, daß dieser Effekt auf das Transplantatüberleben erst 2 Jahre nach Transplantation evident wird (Ehrlich et al. 2001). Neben Faktoren wie initiale Reperfusion- und Ischämieschäden und metabolische Nebenwirkungen eingesetzter Immunsuppressiva sind frühe akute Abstoßungsreaktionen ein wichtiger Risikofaktor für die Entwicklung einer chronischen Transplantatabstoßung und somit für einen späteren Transplantatverlust (Matas et al. 1994; Hayry und Yilmaz 1994; Pascual et al. 2002). Ursächlich sind dabei zum einen ein irreversibler Untergang von Nephronen durch die Abstoßungsreaktion selbst, aber auch medikamentöse Transplantatschädigungen durch notwendige Rejektionstherapien, zum Beispiel in Form von Kortikosteroiden oder einer höheren Dosis an Calcineurininhibitoren. Folge einer akuten Rejektion ist ein Remodeling des Transplantatgewebes mit Verlust

parenchymatöser Zellen und konsekutiver Fibrosierung. Eine Langzeitprognose über die Transplantatfunktion kann anhand der Inzidenz akuter Abstoßungen erfolgen (Gulanika et al. 1992; Almond et al. 1993; Lindholm et al. 1993). Zudem steht die Anzahl aktivierter Lymphozyten in Biopsieprotokollen in Relation mit der Entwicklung einer chronischen Abstoßung (Kirk et al. 1999). Die renale Funktionsleistung im ersten Jahr nach Transplantation ist ein wichtiger Prognosefaktor für das Transplantatlangzeitüberleben (Fernandez-Frecnedo et al. 2005). Erhöhte Serumkreatininspiegel nach Nierentransplantation sind ein starker und unabhängiger Risikofaktor für alle nicht-kardialen und kardialen Todesursachen sowie für den Transplantatverlust (Fellström et al. 2005). Patienten, deren Immunsuppression initial für 72 Stunden unterbrochen wurde, zeigten nach 6 Monaten signifikant bessere Nierenfunktionsparameter (Serumkreatinin und –harnstoff) als die Patienten der Kontroll-Gruppe. Diese Beobachtung basierte sowohl auf immunologischen als auch auf nicht-immunologischen Faktoren. Zum einen ist, wie bereits erwähnt, die höhere Rate akuter Transplantatabstoßungen in der Kontroll-Gruppe ein Risikofaktor für die Entwicklung einer chronischen Transplantatnephropathie und somit auch langfristig mit einer Verschlechterung der renalen Funktionsrate verbunden. Auf der anderen Seite sind nach Transplantation Nephrotoxizität und Nebenwirkungen der eingesetzten Immunsuppressiva, darunter Entwicklung oder Verschlechterung eines Hypertonus, Diabetes, Hyperlipoproteinämie und vermehrte Infektionen, entscheidend für die Verschlechterung der Transplantatfunktion (Sanders und Curtis 1995; Pascual et al. 2002). Der erfolgreiche frühe Steroidentzug in der WOFIE-Gruppe, die niedrige dauerhafte Dosierung und insbesondere die Pausierung des nephrotoxischen Calcineurininhibitors in der frühen vulnerablen Phase nach Nierentransplantation schienen einen erheblichen Einfluß auf die verbesserte renale Funktionsleistung in der WOFIE-Gruppe zu haben. Diese Ergebnisse spiegelten sich auch in einer Studie von Osuna et al. wieder, in welcher 119 Patienten untersucht wurden, welche im Rahmen des Old-for-old Programms nierentransplantiert wurden und somit aufgrund des Alters von Transplantat und Empfänger deutlich stärker von der Nephrotoxizität der Calcineurininhibitoren betroffen waren. Unter dem Schutz des IL-2-Rezeptorantikörpers Daclizumab in Kombination mit MMF und Steroiden führte die verzögerte Applikation von Tacrolimus 5,5 Tage nach Transplantation zu einer deutlich verbesserten renalen

Funktionsleistung (Osuna et al. 2005). Auch Sandrini (Sandrini et al. 2005) berichtete über eine deutlich weniger verzögerte Aufnahme der initialen Transplantatfunktion unter reduzierter Calcineurininhibitormedikation und Induktion mit einem IL-2-Rezeptorantagonisten bei nierentransplantierten Patienten. Die Arbeitsgruppe von Flechner, welche Protokolle nieren-, leber- und herztransplantierten Patienten aus 40 Jahren Transplantationsmedizin recherchierte, konnte eindeutig zeigen, daß bereits die Reduktion des Calcineurininhibitors zu einer Verbesserung der langfristigen renalen Funktion und zu einer Verminderung histologischer Läsionen im Sinne einer chronischen Transplantatnephropathie führte, wenn diese nicht zu spät durchgeführt wurde (Flechner et al. 2008). Auch wenn eine Aussage über das Auftreten chronischer Transplantatabstoßungen derzeit aufgrund der kurzen Studiendauer von 2 Jahren noch nicht möglich ist, lässt die deutlich niedrigere Rate akuter Transplantatabstoßungen in der WOFIE-Gruppe in Zusammenhang mit der erfolgreichen frühen Reduktion der Immunsuppression auf eine niedrigere Inzidenz chronischer Transplantatnephropathien und damit auf eine verbesserte Langzeitprognose hoffen.

Beinahe die Hälfte aller Todesfälle transplantierten Patienten mit guter Transplantatfunktion wird durch kardiovaskuläre Ereignisse verursacht. Diese stellen die Haupttodesursache vor allem im ersten Jahr nach Nierentransplantation dar (Kasiske 2001; Garg et al. 2008) und sind vornehmlich durch metabolische Nebenwirkungen der immunsuppressiven Therapie wie Hyperlipoproteinämie, Entwicklung eines Posttransplantations-Diabetes und eines arteriellen Hypertonus bedingt (Jindal et al. 1997). Häufig besteht bereits vor der Nierentransplantation eine Herz-Kreislaufkrankung, welche durch die immunsuppressive Therapie noch verstärkt wird (Kasiske 2001; Lindholm et al. 1995; Baigent et al. 2000). Bei den derzeit verwendeten Immunsuppressiva entwickeln beinahe 90% der nierentransplantierten Patienten einen arteriellen Hypertonus, und auch bei Patienten mit guter Transplantatfunktion liegt die Prävalenz bei >50% (Fernández-Frescenedo et al. 2001). Calcineurininhibitoren, Cyclosporin A stärker als Tacrolimus (Rabkin et al. 2002), aktivieren das sympathische Nerven- und das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System, supprimieren den atrialen natriuretischen Faktor und bewirken eine Vasokonstriktion, welches zu einer Abschwächung der natriuretischen und diuretischen Antwort auf eine Volumenbelastung und somit zur Entwicklung einer arteriellen Hypertonie führt (Koomans und Lightenberg 2001; Legendre et al. 1989). Durch den Verzicht

auf Steroide und die Reduktion von Calcineurininhibitoren hingegen können die kardiovaskulären Risikofaktoren deutlich vermindert werden (Lo et al. 2004). In der vorliegenden Kieler Studie hatten 90% der WOFIE- und 85% der Kontroll-Patienten bereits vor Transplantation eine arterielle Hypertonie. Eine Studie zur pathologischen Glukoseintoleranz von First et al. zeigte, daß 4,9% aller nierentransplantierten Patienten einen Posttransplantations-Diabetes entwickeln (First et al. 2002). Unabhängige Risikofaktoren für die Entwicklung eines Diabetes mellitus nach Transplantation sind neben dem Alter des Patienten eine positive Familienanamnese, die Höhe der Steroiddosis und eine bereits vor Transplantation bestehende pathologische Glukosetoleranz (Jindal et al. 1997; Backman 2004). Vor der Nierentransplantation war bei 2 WOFIE-Patienten ein insulinpflichtiger Diabetes mellitus bekannt. Vier Patienten der Kontroll-Gruppe zeigten prae-transplantationem einen nicht-insulinpflichtigen Diabetes mellitus. Während keiner der WOFIE-Patienten nach Transplantation an einem Posttransplantations-Diabetes erkrankte und die beiden Diabetiker dieser Gruppe auf unveränderten Insulindosen verblieben, entwickelten 5 Patienten des Kontroll-Armes einen insulinpflichtigen Posttransplantations-Diabetes. Nach Entzug der Steroide konnte jedoch bei 2 Patienten der Kontroll-Gruppe die Insulinmedikation auf ein orales Antidiabetikum umgestellt werden. Ebenfalls waren weitere dokumentierte steroidbedingte Nebenwirkungen in der Studie wie Alopezie, Steroidakne, Achillodynie und aseptische Knochennekrosen nach Entzug der Steroide komplett reversibel. Auch wenn die geringen Patientenzahlen der Studie noch keine endgültigen Aussagen zulassen, scheint der positive Effekt des WOFIE-Protokolls auf die kardiovaskulären Risikofaktoren mit dem erfolgreichen Verzicht auf Steroide in dieser Gruppe zu korrelieren.

Trotz einiger erfolgreicher Modelle der Toleranzinduktion im Tiermodell bleibt im klinischen Alltag der Verzicht auf eine lebenslängliche Immunsuppression eine seltene Ausnahme (Takemoto et al. 2000). Dabei ist die Ausbildung spontaner operationaler Toleranz nach Absetzen der Immunsuppression vor allem vom transplantierten Organ abhängig. Nach Lebertransplantation konnte bei fast 20% eines ausgewählten Patientenguts mit stabiler Transplantatfunktion und niedrigem immunologischen Risiko spontane operationale Toleranz ohne weiteren Bedarf an immunsuppressiver Medikation erzielt werden (Devlin et al. 1998; Takatsuki et al. 2001; Lerut und Sanchez-Fueyo 2006). Auf dem Gebiet der

Nierentransplantation sind solche Berichte rar und beinhalten meist einzelne Patienten, welche aufgrund von Non-Compliance (Burlingham et al. 1995), lymphoproliferativen Erkrankungen (Christensen et al. 1998) oder während einer Schwangerschaft (Fischer et al. 1996) ihre Immunsuppression abgesetzt haben. Mikroarray-Analysen peripherer mononukleärer Zellen, welche vom Toleranznetzwerk RISET (Reprogramming the Immune System for Establishment of Tolerance) durchgeführt wurden, sprechen für genetische Übereinstimmungen innerhalb dieses kleinen Patientenkollektivs. Mehr als 90% der bekannten proinflammatorischen Gene fanden sich hier vermindert (Brouard et al. 2007). Interessanterweise unterschieden sich Anzahl und suppressive Funktion peripherer regulatorischer CD4⁺/CD25⁺ T-Zellen weder von einer gesunden, nicht transplantierten Kontroll-Kohorte noch von Patienten mit stabiler Transplantatfunktion unter Standardimmunsuppression (Louis et al. 2006). Regulatorische T-Zellen spielen eine entscheidende Rolle bei der Toleranzinduktion und ihre Präsenz korreliert mit Langzeitorganüberleben (Bushell et al. 2003), während die Elimination zu einer Produktion von Alloantikörpern (Kitade et al. 2005) und zur Transplantatabstoßung (Lo et al. 2002) führt. Die Zellen exprimieren spezifisch das CD25-Molekül (IL-2-Rezeptor- α -Kette) (Kitade et al. 2005) sowie Foxp3, welches ein Schlüsselenzym in ihrer Entwicklung und Funktion darstellt (Hori et al. 2003). Dieses Kollektiv spontan toleranter Empfänger muß von den rekrutierten Patienten der vorliegenden Studie unterschieden werden. Es wurde entgegen der WOFIE-Gruppe nicht einem Protokoll zugeführt, welches eine immunologische Interaktion immunkompetenter Zellen von Spender und Empfänger in der frühen sensiblen Phase nach Transplantation ermöglichte. Im Tiermodell der allogenen Herztransplantation fand sich während der initialen immunsuppressiven Pause eine hohe Anzahl proliferierender mononukleärer Zellen im Spenderherz, welche nicht zu einer Transplantatschädigung führten (Dresske et al. 2004). Im WOFIE-Kollektiv der hier dargestellten Studie konnte nach Absetzen des IL-2-Rezeptorantikörpers ein Anstieg regulatorischer T-Zellen nachgewiesen werden, der über den gesamten Beobachtungszeitraum auf hohem Niveau stabil blieb und in der Kontroll-Gruppe ausblieb (Dresske et al., 2006). Beide Beobachtungen sprechen für einen induzierten aktiven immunologischen Prozess und nicht für eine genetische Disposition, zumal die Patientenauswahl der Studie zufällig erfolgte.

7. Literaturverzeichnis

Die vorliegende Kieler Pilotstudie überprüfte erstmals das WOFIE-Protokoll für die klinische Nierentransplantation unter kontrollierten Bedingungen. Auch mit bereits etablierten Immunsuppressiva konnte das WOFIE-Protokoll erfolgreich und vor allem für die Patienten sicher durchgeführt werden. Der angestrebte Steroidentzug gelang nach initialer Unterbrechung der Immunsuppression mit einer Ausnahme bei allen Patienten und führte zu einer Reduktion des kardiovaskulären Risikoprofils. Zudem konnte im Vergleich mit der Kontroll-Gruppe eine deutliche Verminderung akuter primärer Rejektionen und eine verbesserte Transplantatfunktion demonstriert werden. Weitere klinische Studien in größeren Patientenkollektiven sollten folgen, um das Protokoll für die Induktion operationaler Toleranz zu optimieren und die zugrunde liegenden immunologischen Prozesse weiter zu klären.

6. Zusammenfassung

Die Induktion spenderspezifischer Toleranz und der Verzicht auf nebenwirkungsträchtige Immunsuppressiva stehen seither im Mittelpunkt der Transplantationsforschung. Auch wenn es bisher nicht gelang, dieses im klinischen Alltag zu etablieren, wurde mit dem von Roy Calne entwickelten WOFIE-Protokoll (WOFIE = window of opportunity for immunological engagement) eine Methode beschrieben, transplantierten Patienten eine steroidfreie niedrig-dosierte Dauerimmunsuppression zu ermöglichen. Calne postulierte, daß durch das Pausieren der Immunsuppression in der initialen Phase nach Transplantation (WOFIE) Interaktionen immunkompetenter Zellen zwischen Empfänger und Spender stattfinden, die zur Induktion von Langzeitorganakzeptanz führen. Auch wenn erste Anwendungen unter Induktion mit dem anti-CD52-Antikörper Campath 1H an nierentransplantierten Patienten Erfolg versprechend waren, fehlten klinisch kontrollierte Studien. Des Weiteren blieb bislang ungeklärt, ob der beobachtete tolerogene Effekt durch die Verwendung des hochpotenten Antikörpers oder durch die initiale Unterbrechung der Immunsuppression bedingt war. Zielsetzung der vorliegenden Pilotstudie war die kontrollierte Überprüfung der WOFIE-Hypothese unter Anwendung etablierter Immunsuppressiva an nierentransplantierten Patienten, um eine steroidfreie Dauerimmunsuppression mit konsekutiver Reduktion medikamenten-assoziiertes Nebenwirkungen zu ermöglichen.

Die Kieler Pilotstudie wurde als prospektive offene randomisierte und kontrollierte Studie mit insgesamt 40 nierentransplantierten Patienten (20 WOFIE-/20 Kontroll-Gruppe) durchgeführt, welche für insgesamt 2 Jahre nachbeobachtet wurden. Die Immunsuppression umfasste in beiden Gruppen den IL-2-Rezeptorantikörper Daclizumab (1 mg/kg Körpergewicht Tag 0 sowie 2, 4, 6 und 8 Wochen nach Transplantation), Mycophenolat Mofetil (1-2 g/Tag), Tacrolimus (Tacrolimusblutspiegel 5-8 ng/ml) und Prednisolon. In der WOFIE-Gruppe wurde die immunsuppressive Therapie nach präoperativer Induktion mit Daclizumab, 2 g Mycophenolat Mofetil und 500 mg Prednisolon für insgesamt 72 Stunden unterbrochen, während diese in der Kontroll-Gruppe unmittelbar nach Transplantation fortgesetzt wurde. Acht Wochen nach Transplantation wurden die Steroide in beiden Behandlungsgruppen über

4-6 Wochen ausgeschlichen und die Immunsuppression als niedrig-dosierte Dualtherapie mit Mycophenolat Mofetil und Tacrolimus fortgesetzt.

Vierzehn von 20 (70%) WOFIE- und 16 von 20 (80%) Kontroll-Patienten konnten bis 24 Monate nach Transplantation nachbeobachtet werden. Insgesamt wurden 10 von 40 Studienpatienten (25%) von der Studie ausgeschlossen. Patienten- und Organüberleben war in beiden Studienarmen vergleichbar (95/90% in der WOFIE- und 100/95% in der Kontroll-Gruppe). Ein Patient verstarb mit uneingeschränkter Nierenfunktion an einer generalisierten Cytomegalie-Virus-Infektion. Die Tacrolimusblutspiegel unterschieden sich nicht signifikant zwischen beiden Behandlungsgruppen und befanden sich im vorgegebenen Zielbereich. Die tägliche Dosierung des Mycophenolat Mofetil lag in Abhängigkeit von den beobachteten Nebenwirkungen zwischen 0,5 und 2,0 g/Tag und korrelierte zwischen beiden Behandlungsgruppen. Während bei 94,4% der WOFIE-Gruppe die Steroide erfolgreich dauerhaft abgesetzt werden konnten, gelang ein dauerhafter Steroidentzug nur bei 76,5% der Kontroll-Patienten. Aufgrund wiederholter steroidsensitiver Abstoßungsreaktionen benötigten 1 WOFIE- und 4 Kontroll-Patienten erneut eine permanente Steroidzufuhr. Die initiale Unterbrechung der Immunsuppression führte zu einer deutlichen Minderung akuter Transplantatabstoßungen. Die Rate akuter primärer Abstoßungen lag in der WOFIE-Gruppe bei 10%, während in der Kontroll-Gruppe mit 30% eine deutlich höhere Abstoßungsrate verzeichnet wurde. Sieben von 8 Abstoßungsepisoden traten innerhalb der ersten 12 Wochen nach Transplantation auf und standen somit nicht mit der Unterbrechung der Steroidmedikation in kausalen Zusammenhang. Während der ersten 6 postoperativen Monate war die Transplantatfunktion unabhängig vom immunsuppressiven Protokoll in beiden Gruppen vergleichbar. Dahingegen fanden sich nach einem halben Jahr in der WOFIE-Gruppe signifikant niedrigere Serumkreatinin- und -harnstoffwerte als in der Kontroll-Gruppe. Der erfolgreiche Entzug der Steroidmedikation führte in der WOFIE-Gruppe zudem zu einer Verminderung metabolischer Nebenwirkungen. Während bei 43% der WOFIE-Patienten die antihypertensive Medikation erfolgreich reduziert werden konnte, gelang eine erfolgreiche Reduktion der antihypertensiven Therapie nur bei 25% der Kontroll-Patienten. Bei keinem der WOFIE-Patienten kam es nach Transplantation zur Ausbildung eines Posttransplantations-

Diabetes. Dahingegen entwickelten 5 Patienten des Kontroll-Armes einen insulinpflichtigen Diabetes mellitus.

Auch mit bereits etablierten Immunsuppressiva konnte das WOFIE-Protokoll erfolgreich und vor allem für die Patienten sicher durchgeführt werden. Durch die initiale Unterbrechung der Immunsuppression gelang bei >90% der Patienten ein früher Entzug der Steroidmedikation. Zudem konnte eine deutliche Verminderung akuter primärer Rejektionen und eine verbesserte Transplantatfunktion demonstriert werden. Weitere klinische Studien in größeren Patientenkollektiven sollten folgen, um das Protokoll für die Induktion operationaler Toleranz zu optimieren und die zugrunde liegenden immunologischen Prozesse weiter zu klären.

7. Literaturverzeichnis

- Ader JL, Rostaing L. Cyclosporin nephrotoxicity: pathophysiology and comparison with FK-506. *Curr.Opin.Nephrol.Hypertens.* 1998;7(5):539-45.
- Almond PS, Matas A, Gillingham K, Dunn DL, Payne WD, Gores P, Gruessner R, Najarian JS. Risk factors for chronic rejection in renal allograft recipients. *Transplantation.* 1993;55(4):752-6.
- Backman LA. Post-transplant diabetes mellitus: the last 10 years with tacrolimus. *Nephrol.Dial.Transplant.*2004.Dec.;19.Suppl.6.:vi13-vi16.
- Baigent C, Burbury K, Wheeler D. Premature cardiovascular disease in chronic renal failure. *Lancet.*2000.Jul.8.;356(9224):147-52.
- Billingham RE, Brent L, Medawar PB. Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature.* 1953;172(4379):603-6.
- Bishop GA, Sun J, Sheil AG, McCaughan GW. High-dose/activation-associated tolerance: a mechanism for allograft tolerance. *Transplantation.* 1997;64(10):1377-82.
- Borel JF. Cyclosporin and its future. *Prog.Allergy.* 1986;38:9-18.
- Brouard S, Mansfield E, Braud C, Li L, Giral M, Hsieh SC, Baeten D, Zhang M, Ashton-Chess J, Braudeau C, et al. Identification of a peripheral blood transcriptional biomarker panel associated with operational renal allograft tolerance. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*2007.Sep.25.;104.(39):15448-53.
- Burlingham WJ, Grailer AP, Fechner JHJ, Kusaka S, Trucco M, Kocova M, Belzer FO, Sollinger HW. Microchimerism linked to cytotoxic T lymphocyte functional

- unresponsiveness (clonal anergy) in a tolerant renal transplant recipient. *Transplantation*. 1995;59(8):1147-55.
- Bushell A, Karim M, Kingsley CI, Wood KJ. Pretransplant blood transfusion without additional immunotherapy generates CD25+CD4+ regulatory T cells: a potential explanation for the blood-transfusion effect. *Transplantation*. 2003.Aug.15;76(3.):449-55.
- Calne R, Friend P, Moffatt S, Bradley A, Hale G, Firth J, Bradley J, Smith K, Waldmann H. Prope tolerance, perioperative campath 1H, and low-dose cyclosporin monotherapy in renal allograft recipients. *Lancet*. 1998;351(9117):1701-2.
- Calne RY, Watson CJ, Brons IG, Makisalo H, Metcalfe SM, Sriwatanawongsa V, Davies HS. Tolerance of porcine renal allografts induced by donor spleen cells and seven days' treatment with cyclosporine. *Transplantation*. 1994;57(10):1433-5.
- Cecka JM. The role of HLA in renal transplantation. *Hum.Immunol*. 1997;56(1-2):6-16.
- Citterio F. Steroid side effects and their impact on transplantation outcome. *Transplantation*. 2001 Dec;72(12 Suppl):S75-80.
- Chiba S., Goto S., Shimizu Y., Vari F., Lord R., Edwards-Smith C., Ochiai T., Isono K. Role of reconstituted passenger leucocytes on the induction of tolerance in rat liver transplantation. *Transplant Proc*. 1997 Feb-Mar;29(1-2):1160-1
- Christensen LL, Grunnet N, Rudiger N, Moller B, Birkeland SA. Indications of immunological tolerance in kidney transplantation. *Tissue Antigens*. 1998;51(6):637-44.
- Ciancio G, Burke GW, Gaynor JJ, Carreno MR, Cirocco RE, Mathew JM, Mattiazzi A, Cordovilla T, Roth D, Kupin W, et al. A randomized trial of three renal transplant induction antibodies: early comparison of tacrolimus, mycophenolate mofetil, and steroid dosing, and newer immune-monitoring. *Transplantation*. 2005.Aug.27;80.(4.):457-65.

- Dahmen U, Qian S, Rao AS, Demetris AJ, Fu F, Sun H, Gao L, Fung JJ, Starzl TE. Split tolerance induced by orthotopic liver transplantation in mice. *Transplantation*. 1994;58(1):1-8.
- Devlin J, Doherty D, Thomson L, Wong T, Donaldson P, Portmann B, Williams R. Defining the outcome of immunosuppression withdrawal after liver transplantation. *Hepatology*. 1998;27(4):926-33.
- Donahoo WT, Kosmiski LA, Eckel RH. Drugs causing dyslipoproteinemia. *Endocrinol.Metab.Clin.North Am*. 1998;27(3):677-97.
- Dresske B, Haendschke F, Lenz P, Ungefroren H, Jenisch S, Exner B, El MN, Lu T, Zavazava N, Faendrich F. WOFIE stimulates regulatory T cells: a 2-year follow-up of renal transplant recipients. *Transplantation*.2006.Jun.15.;81.(11):1549-57.
- Dresske B., Huang D.S., Lin X., Kremer B. Fändrich F. Synergistic impact of “WOFIE“ on the immunosuppressive potency of FK 506 in a heterotopic heart transplantation model in the rat. *Transplantation Proc*. 1999 May;31(3):1561-2.
- Erllich HA, Opelz G, Hansen J. HLA DNA typing and transplantation. *Immunity*.2001.Apr.;14(4):347-56.
- Fellstrom B, Jardine AG, Soveri I, Cole E, Neumayer HH, Maes B, Gimpelewicz C, Holdaas H. Renal dysfunction is a strong and independent risk factor for mortality and cardiovascular complications in renal transplantation. *Am.J.Transplant*.2005.Aug.;5(8):1986-91.
- Fernandez-Fresnedo G, Rodrigo E, de FA, Escallada R, Ruiz JC, Cotorruelo JC, Zubimendi JA, Arias M. Change in serum creatinine levels between 6 and 12 months and kidney graft survival: influence of proteinuria. *Transplant.Proc*.2005.Apr.;37(3):1433-4.

7. Literaturverzeichnis

- First MR, Gerber DA, Hariharan S, Kaufman DB, Shapiro R. Posttransplant diabetes mellitus in kidney allograft recipients: incidence, risk factors, and management. *Transplantation*.2002.Feb.15.;73(3):379-86.
- Fischer T, Schobel H, Barenbrock M. Specific immune tolerance during pregnancy after renal transplantation. *Eur.J.Obstet.Gynecol.Reprod.Biol.* 1996;70(2):217-9.
- Flechner SM, Kobashigawa J, Klintmalm G. Calcineurin inhibitor-sparing regimens in solid organ transplantation: focus on improving renal function and nephrotoxicity. *Clin.Transplant*.2008.Jan.-Feb.;22(1):1-15.
- Gaber LW, Moore LW, Gaber AO, First MR, Guttman RD, Pouletty P, Schroeder TJ, Soullou JP. A multicenter report on the utilization of Banff grading in acute renal rejection. The 1995 Efficacy Endpoints Conference. *Transplant.Proc.* 1997;29(1-2):184-5.
- Garg AX, Prasad GV, Thiessen-Philbrook HR, Ping L, Melo M, Gibney EM, Knoll G, Karpinski M, Parikh CR, Gill J, et al. Cardiovascular disease and hypertension risk in living kidney donors: an analysis of health administrative data in Ontario, Canada. *Transplantation*.2008.Aug.15.;86(3.):399-406.
- Grinyo JM, Gil-Vernet S, Seron D, Cruzado JM, Moreso F, Fulladosa X, Castela AM, Torras J, Hooftman L, Alsina J. Steroid withdrawal in mycophenolate mofetil-treated renal allograft recipients. *Transplantation.* 1997;63(11):1688-90.
- Gulanikar AC, MacDonald AS, Sungurtekin U, Belitsky P. The incidence and impact of early rejection episodes on graft outcome in recipients of first cadaver kidney transplants. *Transplantation.* 1992;53(2):323-8.
- Halloran PF, Melk A, Barth C. Rethinking chronic allograft nephropathy: the concept of accelerated senescence. *J.Am.Soc.Nephrol.* 1999;10(1):167-81.
- Hayry P, Yilmaz S. Chronic allograft rejection: an update. *Transplant.Proc.* 1994;26(6):3159-60.

7. Literaturverzeichnis

- Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*.2003.Feb.14.;299(5609):1057.-61.
- Jindal RM, Sidner RA, Milgrom ML. Post-transplant diabetes mellitus. The role of immunosuppression. *Drug Saf*. 1997;16(4):242-57.
- Kahan BD. Cyclosporin A: a new advance in transplantation. *Tex.Heart Inst.J*. 1982;9(3):253-66.
- Kamada N. The immunology of experimental liver transplantation in the rat. *Immunology*. 1985;55(3):369-89.
- Kandaswamy R, Melancon JK, Dunn T, Tan M, Casingal V, Humar A, Payne WD, Gruessner RW, Dunn DL, Najarian JS, et al. A prospective randomized trial of steroid-free maintenance regimens in kidney transplant recipients--an interim analysis. *Am.J.Transplant*.2005.Jun.;5.(6):1529-36.
- Kasiske BL, Chakkera HA, Roel J. Explained and unexplained ischemic heart disease risk after renal transplantation. *J.Am.Soc.Nephrol*.2000.Sep.;11.(9):1735-43.
- Kasiske BL, Danpanich E. Malignancies in renal transplant recipients. *Transplant.Proc*.2000.Nov.;32(7):1499.-500.
- Kasiske BL. Epidemiology of cardiovascular disease after renal transplantation. *Transplantation*.2001.Sep.27.;72.(6.Suppl.):S5.-8.
- Kirk AD, Jacobson LM, Heisey DM, Radke NF, Pirsch JD, Sollinger HW. Clinically stable human renal allografts contain histological and RNA-based findings that correlate with deteriorating graft function. *Transplantation*. 1999;68(10):1578-82.
- Kitade H, Kawai M, Rutgeerts O, Landuyt W, Waer M, Mathieu C, Pirenne J. Early presence of regulatory cells in transplanted rats rendered tolerant by donor-specific blood transfusion. *J.Immunol*.2005.Oct.15.;175.(8):4963.-70.

- Knoop M, Neumann U, Neuhaus P. Immunologic tolerance after experimental liver transplantation. *Langenbecks. Arch.Chir.* 1995;380(5):281-7.
- Koomans HA, Ligtenberg G. Mechanisms and consequences of arterial hypertension after renal transplantation. *Transplantation.*2001.Sep.27.;72(6.Suppl.):S9-12.
- Laskowski IA, Pratschke J, Wilhelm MM, Gasser M, Paz D, Hancock WW, Tilney NL. Early and late injury to renal transplants from non-heart-beating donors. *Transplantation.*2002.May.15.;73.(9):1468-73.
- Laux G, Opelz G. Immunological relevance of CREG matching in cadaver kidney transplantation. *Transplantation.*2004.Aug.15.;78(3):442.-6.
- Lebranchu Y, Halimi JM, Bock A, Chapman J, Dussol B, Fritsche L, Kliem V, Oppenheimer F, Pohanka E, Salvadori M, et al. Delayed graft function: risk factors, consequences and parameters affecting outcome-results from MOST, A Multinational Observational Study. *Transplant.Proc.*2005.Jan.-Feb.;37(1):345-7.
- Legendre C, Saltiel C, Kreis H, Grunfeld JP. Hypertension in kidney transplantation. *Klin.Wochenschr.* 1989;67(17):919-22.
- Lerut J, Sanchez-Fueyo A. An appraisal of tolerance in liver transplantation. *Am.J.Transplant.*2006.Aug.;6(8):1774-80.
- Lindholm A, Ohlman S, Albrechtsen D, Tufveson G, Persson H, Persson NH. The impact of acute rejection episodes on long-term graft function and outcome in 1347 primary renal transplants treated by 3 cyclosporine regimens. *Transplantation.* 1993;56(2):307-15.
- Lindholm A, Albrechtsen D, Frodin L, Tufveson G, Persson NH, Lundgren G. Ischemic heart disease--major cause of death and graft loss after renal transplantation in Scandinavia. *Transplantation.* 1995;60(5):451-7.

- Lo A, Egidi MF, Gaber LW, Amiri HS, Vera S, Nezakatgoo N, Gaber AO. Comparison of sirolimus-based calcineurin inhibitor-sparing and calcineurin inhibitor-free regimens in cadaveric renal transplantation. *Transplantation*.2004.Apr.27.;77(8):1228-35.
- Louis S, Braudeau C, Giral M, Dupont A, Moizant F, Robillard N, Moreau A, Souillou JP, Brouard S. Contrasting CD25hiCD4+T cells/FOXP3 patterns in chronic rejection and operational drug-free tolerance. *Transplantation*.2006.Feb.15.;81(3):398-407.
- Magee CC, Pascual M. Update in renal transplantation. *Arch.Intern.Med*.2004.Jul.12.;164(13):1373-88.
- Matas AJ, Gillingham KJ, Payne WD, Najarian JS. The impact of an acute rejection episode on long-term renal allograft survival (t1/2). *Transplantation*. 1994;57(6):857-9.
- Merville P, Berge F, Deminiere C, Morel D, Chong G, Durand D, Rostaing L, Mourad G, Potaux L. Lower incidence of chronic allograft nephropathy at 1 year post-transplantation in patients treated with mycophenolate mofetil. *Am.J.Transplant*.2004.Nov.;4(11):1769-75.
- Nashan B. Antibody induction therapy in renal transplant patients receiving calcineurin-inhibitor immunosuppressive regimens: a comparative review. *BioDrugs*.2005.;19(1):39-46.
- Osuna A, Gentil MA, Capdevila L, Cantarell C, Mazuecos A, Pereira P, Rodriguez-Algarra G, Gonzalez-Molina M. Two doses of daclizumab with delayed introduction of low-dose tacrolimus in elderly recipients of cadaveric renal transplants from donors >55 years of age. *Transplant.Proc*.2005.Apr.;37(3):1438-40.

7. Literaturverzeichnis

- Pascual J, Quereda C, Zamora J, Hernandez D. Steroid withdrawal in renal transplant patients on triple therapy with a calcineurin inhibitor and mycophenolate mofetil: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Transplantation*.2004.Nov.27.;78(10):1548-56.
- Pascual M, Theruvath T, Kawai T, Tolkoff-Rubin N, Cosimi AB. Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. *N.Engl.J.Med*.2002.Feb.21.;346(8):580-90.
- 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.
- Rabkin JM, Rosen HR, Corless CL, Olyaei AJ. Tacrolimus is associated with a lower incidence of cardiovascular complications in liver transplant recipients. *Transplant.Proc*.2002.Aug.;34(5):1557-8.
- Rao AS, Phil D, Fontes P, Iyengar A, Aitouche A, Shapiro R, Zeevi A, Dodson F, Corry R, Rastellini C, et al. An attempt to induce tolerance with infusion of donor bone marrow in organ allograft recipients. *Adv.Exp.Med.Biol*. 1997;417:269-74.
- Rosenberger J, Geckova AM, van DJ, Nagyova I, Roland R, van den Heuvel WJ, Groothoff JW. Prevalence and characteristics of noncompliant behaviour and its risk factors in kidney transplant recipients. *Transpl.Int*.2005.Sep.;18(9):1072-8.
- Rostaing L, Cantarovich D, Mourad G, Budde K, Rigotti P, Mariat C, Margreiter R, Capdevilla L, Lang P, Vialtel P, et al. Corticosteroid-free immunosuppression with tacrolimus, mycophenolate mofetil, and daclizumab induction in renal transplantation. *Transplantation*.2005.Apr.15;79(7):807-14.
- Salvadori M, Rosati A, Bock A, Chapman J, Dussol B, Fritsche L, Jeffery J, Kliem V, Lebranchu Y, Oppenheimer F, et al. One-year posttransplant renal function is a

- strong predictor of long-term kidney function: results from the Neoral-MOST Observational Study. *Transplant.Proc.*2003.Dec.;35(8):2863-7.
- Sanders CEJ, Curtis JJ. Role of hypertension in chronic renal allograft dysfunction. *Kidney Int.Suppl.* 1995;52:S43-7.
- Sandrini S. Use of IL-2 receptor antagonists to reduce delayed graft function following renal transplantation: a review. *Clin.Transplant.*2005.Dec.;19(6):705-10.
- Shapiro R. Tacrolimus in solid organ transplantation: an update. *Transplant.Proc.* 1999;31(6):2203-5.
- Silva HTJ, Yang HC, Abouljoud M, Kuo PC, Wisemandle K, Bhattacharya P, Dhadda S, Holman J, Fitzsimmons W, First MR. One-year results with extended-release tacrolimus/MMF, tacrolimus/MMF and cyclosporine/MMF in de novo kidney transplant recipients. *Am.J.Transplant.*2007.Mar.;7(3):595-608.
- Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H, Burdick JF, Cohen AH, Colvin RB, Croker BP, Droz D, Dunnill MS, Halloran PF. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int.* 1993;44(2):411-22.
- Solez K, Vincenti F, Filo RS. Histopathologic findings from 2-year protocol biopsies from a U.S. multicenter kidney transplant trial comparing tarolimus versus cyclosporine: a report of the FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation.* 1998;66(12):1736-40.
- Sriwatanawongsa V, Davies HS, Calne RY. The essential roles of parenchymal tissues and passenger leukocytes in the tolerance induced by liver grafting in rats. *Nat.Med.* 1995;1(5):428-32.
- Starzl TE, Murase N, Demetris AJ, Trucco M, Abu-Elmagd K, Gray EA, Egtesad B, Shapiro R, Marcos A, Fung JJ. Lessons of organ-induced tolerance learned from historical clinical experience. *Transplantation.*2004.Mar.27;77(6):926-9.

7. Literaturverzeichnis

- Starzl TE, Demetris AJ, Murase N, Ildstad S, Ricordi C, Trucco M. Cell migration, chimerism, and graft acceptance. *Lancet*. 1992;339(8809):1579-82.
- Sun J, Sheil AG, Wang C, Wang L, Rokahr K, Sharland A, Jung SE, Li L, McCaughan GW, Bishop GA. Tolerance to rat liver allografts: IV. Acceptance depends on the quantity of donor tissue and on donor leukocytes. *Transplantation*. 1996;62(12):1725-30.
- Takatsuki M, Uemoto S, Inomata Y, Egawa H, Kiuchi T, Fujita S, Hayashi M, Kanematsu T, Tanaka K. Weaning of immunosuppression in living donor liver transplant recipients. *Transplantation*. 2001.Aug.15;72(3):449-54.
- Takemoto SK, Terasaki PI, Gjertson DW, Cecka JM. Twelve years' experience with national sharing of HLA-matched cadaveric kidneys for transplantation. *N.Engl.J.Med*.2000.Oct.12.;343(15):1078-84.
- Taniguchi H., Toyoshima T., Fukao K. Nakauchi H. Presence of hematopoietic stem cells in the adult liver. *Nat Med*. 1996 Feb;2(2):198-203.
- Vanrenterghem YF. Acute rejection and renal allograft outcome. *Nephrol.Dial.Transplant*. 1995;10 Suppl 1:29-31.
- Wheeler DC, Steiger J. Evolution and etiology of cardiovascular diseases in renal transplant recipients. *Transplantation*.2000.Dec.15.;70.(11.Suppl.):S41-5.

Bucheinträge

1. Opelz, G (1995-2004): Collaborative Transplant Study (CTS). In Deutsche Stiftung Organtransplantation (Hrsg.), 2008, Neu-Isenburg.
2. Dreßke B, Rohlfing H, Zavazava N, El Mokhtari N E, Thode M C, Kremer B, Fändrich F (2004): Vergleichende Untersuchung der immunsuppressiven Potenz von Rapamycin und Tacrolimus unter Verwendung eines immunsuppressiven Fensters (WOFIE) am Beispiel der vollallogenen Herztransplantation in der Ratte. In Ulrich, B., Jauch, K. W., Bauer, H., (Hrsg.), Deut Gesellsch Chir, Chir. Forum Bd. 33, S. 371-373, Springer, Berlin.
3. Eurotransplant (2008): Organspende und Transplantation in Deutschland 2007. In Deutsche Stiftung Organtransplantation (Hrsg.), 2008, Neu-Isenburg.
4. Deutsche Stiftung Organtransplantation (2008): Organspende und Transplantation in Deutschland 2007. In Deutsche Stiftung Organtransplantation (Hrsg.), Neu-Isenburg.
5. Hamilton, D (1988): Kidney transplantation: A history. In Morris, P J (ed.): Kidney transplantation: Principles and Practice. Saunders-Verlag, Philadelphia.
6. Karow, T, Lang, R (2004): Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie. In Karow T, Lang, R (Hrsg.), Puhlheim.
7. Müller-Ruchholtz, W (1984): Grundlagen der Immunologie. In H J Otte und Brandis (Hrsg.), Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie, 5. Aufl., 40-77, G.-Fischer-Verlag, Stuttgart.
8. Sperschneider H, Heemann U, Stein G (2003): update: Nephrologie- Teil 2, Strategien der Immunsuppression nach Nierentransplantation (Strategies in the

7. Literaturverzeichnis

Immunosuppression after Kidney Transplantation). In Medizinische Klinik, Vol. 98, Nr. 3, S. 140-145, Springer, Berlin.

8. Anhang

Tabelle 1: Referenzwerte der verwendeten Laborparameter

(Zentrallabor Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel bis 2004)

Blutbild	Referenzbereich	Einheit
Leukozyten	4,3-10,0	/nl
Erythrozyten	4,5-6,3	/pl
Hämoglobin	14-18	g/dl
Hämatokrit	38-52	vol%
Thrombozyten	140-440	/nl
Lymphozyten	15-50	%
Klinische Chemie im Serum		
Natrium	130-150	mmol/l
Kalium	3,6-5,2	mmol/l
Chlorid	97-109	mmol/l
Calcium	2,0-2,6	mmol/l
Phosphat	0,81-1,45	mmol/l
Magnesium	0,8-1,0	mmol/l
Harnstoff	10-48	mg/dl
Kreatinin	0,6-1,2	mg/dl
Totalprotein	6,0-8,4	g/dl
Albumin	3,5-5,0	g/dl
Glutamat-Oxalazetat-Transaminase GOT	5-18	U/l
Glutamat-Pyruvat-Transaminase GPT	5-20	U/l
Alkalische Phosphatase AP	70-190	U/l
Gamma-Glutamyl-Transferase γ -GT	6-28	U/l
Bilirubin gesamt	<1,30	mg/dl
Bilirubin direkt	<0,4	mg/dl
Glukose	75-115	mg/dl
Triglyceride	70-200	mg/dl
Cholesterin	<200	mg/dl
C-reaktives Protein (CRP)	<5	mg/l
Interleukin 6 (IL-6)	0-30	pg/ml
Procalcitonin (PCT)	0,0-0,5	ng/ml
Urinstatus		
pH-Wert	4,8-7,5	pH
Leukozyten	negativ	bis 10 / μ l
Nitrit	negativ	mmol/l
Protein	negativ	g/dl
Glucose	negativ	mg/dl
Ketone	negativ	mg/dl
UBG	normal	mg/dl
Bilirubin	negativ	mg/dl
Erythrozyten	negativ	bis 5/ μ l
Bakterien	negativ	
Natrium	90-300	mmol/l
Kalium	25-105	mmol/l

7. Literaturverzeichnis

Calcium	2,0-8,0	mmol/l
Phosphat	4-36	mmol/l
Kreatinin	40-260	mg/dl
Harnstoff	420-1400	mg/dl
Tacrolimus (Talspiegel)	sicher toxisch >20	ng/ml

Tabelle 2: Transplantatfunktion und Tacrolimusblutspiegel

Zeitpunkt p. Tx.	Serumkreatinin (mg/dl)				Serumharnstoff (mg/dl)				Tac.-Blutspiegel (ng/ml)			
	WOFIE		Kontrolle		WOFIE		Kontrolle		WOFIE		Kontrolle	
	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD
Tag 0	7,8 ± 2,6	7,5 ± 2,4	90 ± 38	86 ± 35								
Tag 2	7,9 ± 2,6	8,3 ± 2,4	121 ± 40	119 ± 44							9,2 ± 3,5	
Tag 4	8,3 ± 2,9	7,4 ± 2,9	139 ± 44	131 ± 46	6,0 ± 2,5	9,8 ± 3,3						
Tag 6	8,4 ± 3,4	6,5 ± 3,2	161 ± 55	134 ± 41	8,7 ± 2,6	9,6 ± 3,2						
Tag 8	6,9 ± 3,0	5,6 ± 3,4	151 ± 70	126 ± 37	10,2 ± 6,7	9,2 ± 2,0						
Tag 10	5,6 ± 2,6	4,9 ± 3,2	151 ± 63	115 ± 45	8,3 ± 2,3	9,1 ± 2,0						
Tag 12	4,3 ± 2,4	4,3 ± 2,8	137 ± 62	104 ± 44	8,5 ± 3,6	9,0 ± 2,0						
Tag 14	3,8 ± 2,7	3,3 ± 1,9	112 ± 58	99 ± 38	8,4 ± 3,1	8,8 ± 2,1						
Woche 4	2,3 ± 1,8	2,4 ± 1,6	75 ± 51	89 ± 44	8,4 ± 3,5	8,6 ± 2,3						
Woche 6	1,8 ± 1,0	1,7 ± 0,8	71 ± 63	68 ± 32	9,3 ± 3,6	9,3 ± 2,5						
Woche 8	1,5 ± 0,4	1,6 ± 0,5	66 ± 34	64 ± 29	7,1 ± 2,0	8,5 ± 1,7						
4 Monate	1,6 ± 0,5	1,7 ± 0,6	73 ± 44	64 ± 26	7,9 ± 2,0	9,3 ± 2,3						
6 Monate	1,4 ± 0,4	1,7 ± 0,6	66 ± 37	61 ± 27	7,5 ± 3,0	7,6 ± 2,3						
8 Monate	1,4 ± 0,4	1,8 ± 0,7	55 ± 23	70 ± 27	7,7 ± 1,9	9,4 ± 3,6						
10 Monate	1,4 ± 0,5	1,7 ± 0,6	54 ± 24	69 ± 31	7,4 ± 2,7	8,0 ± 1,9						
12 Monate	1,4 ± 0,5	1,6 ± 0,6	55 ± 19	68 ± 25	7,6 ± 2,6	7,7 ± 1,9						
14 Monate	1,4 ± 0,5	1,7 ± 0,6	67 ± 37	67 ± 28	7,7 ± 2,9	7,9 ± 1,5						
16 Monate	1,5 ± 0,4	1,7 ± 0,7	58 ± 20	66 ± 37	7,7 ± 2,2	7,4 ± 2,4						
18 Monate	1,5 ± 0,4	1,7 ± 0,7	58 ± 16	68 ± 36	8,0 ± 1,3	7,7 ± 2,3						
20 Monate	1,5 ± 0,4	1,7 ± 0,7	54 ± 11	68 ± 33	7,1 ± 2,2	7,7 ± 1,8						
22 Monate	1,6 ± 0,5	1,8 ± 0,7	56 ± 13	69 ± 33	6,9 ± 1,6	7,2 ± 1,0						
24 Monate	1,5 ± 0,4	1,9 ± 0,7	52 ± 14	65 ± 27	6,8 ± 1,3	7,0 ± 1,4						

Tabelle 3: Blutdrücke in Abhängigkeit vom immunsuppressiven Protokoll

Zeitpunkt nach	Blutdruck systolisch		Blutdruck diastolisch	
	(mmHg)		(mmHg)	
Transplantation	WOFIE	Kontrolle	WOFIE	Kontrolle
(Tag/Woche/Monate)	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD
Tag 0	138 ± 20	134 ± 20	74 ± 10	76 ± 8
Tag 2	127 ± 25	130 ± 23	74 ± 15	75 ± 15
Tag 4	132 ± 22	143 ± 26	77 ± 16	80 ± 12
Tag 6	141 ± 18	144 ± 25	79 ± 9	83 ± 10
Tag 8	143 ± 17	138 ± 14	80 ± 8	79 ± 8
Tag 10	146 ± 19	140 ± 17	80 ± 9	79 ± 8
Tag 12	143 ± 12	134 ± 14	80 ± 8	77 ± 10
Tag 14	144 ± 14	134 ± 18	81 ± 11	79 ± 11
Woche 4	143 ± 15	131 ± 14	81 ± 11	78 ± 9
Woche 6	143 ± 15	133 ± 13	83 ± 15	75 ± 14
Woche 8	143 ± 22	132 ± 13	79 ± 8	78 ± 9
4 Monate	140 ± 18	127 ± 18	81 ± 8	78 ± 10
6 Monate	130 ± 14	134 ± 21	80 ± 6	79 ± 8
8 Monate	126 ± 14	127 ± 20	77 ± 6	78 ± 10
10 Monate	126 ± 13	134 ± 21	79 ± 5	79 ± 8
12 Monate	131 ± 10	131 ± 15	78 ± 6	80 ± 10
14 Monate	130 ± 12	132 ± 14	78 ± 6	78 ± 10
16 Monate	131 ± 10	136 ± 27	77 ± 7	81 ± 10
18 Monate	132 ± 11	127 ± 14	77 ± 7	81 ± 10
20 Monate	132 ± 11	138 ± 16	78 ± 8	78 ± 9
22 Monate	131 ± 11	136 ± 20	79 ± 12	79 ± 12
24 Monate	131 ± 9	128 ± 15	76 ± 9	77 ± 10

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Frau Privat-Dozentin Dr. med. B. Dreßke. Ihre engagierte und unermüdliche Unterstützung trug zum Gelingen der vorliegenden Arbeit bei. In unzähligen Stunden des Zusammenarbeitens entwickelte sich eine tiefe wertvolle Freundschaft.

Herrn Professor Dr. med. Bernd Kremer, Direktor der Klinik für Allgemeine Chirurgie und Thoraxchirurgie und Klinikdirektor des Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, und Herrn Professor Dr. med. Fred Fändrich, FRCS, Ständiger Vertreter des Direktors und Leiter der Sektion Transplantationsmedizin und Biotechnologie des UK-SH, Campus Kiel möchte ich sehr für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes danken.

Herrn Dr. med. Stefan Jenisch, wissenschaftlicher Assistent am Institut für Immunologie des UK-SH, Campus Kiel, möchte ich für die Durchführung des HLA-Matching der in die WOFIE-Studie rekrutierten Patienten danken.

Für die Unterstützung bei allen Tätigkeiten zur Erhebung der Daten danke ich ausdrücklich dem Team der Transplantationsambulanz der Chirurgie (Frau Dr. med. Krämer-Hansen, Schwester Tanja) und der I. Medizin, den Mitarbeitern der chirurgischen Station B4, Frau Susanne Wagner, den Damen aus dem Zentrallabor, den Pförtnerinnen der Nordpforte und Petra Glaß, Koordinatorin des Transplantationszentrums der Klinik.

Ich danke meinen Eltern und meinen Geschwistern Malwine, Gesine und Matthias sowie meinen Schwiegereltern und meiner Schwägerin Elske.

Und ganz besonderer Dank gilt auch meinem Ehemann Helge.

Lebenslauf

Am 22. Januar 1977 wurde ich als älteste von drei Töchtern des Gynäkologen Dr. med. Dagobert Kasimir Lenz und seiner Ehefrau, der Praktischen Ärztin Angela Maria Lenz, geborene Böhlke, in Berlin-Charlottenburg geboren.

Von 1989 bis 1996 besuchte ich das Alte Gymnasium in Bremen, an dem ich 1996 die Allgemeine Hochschulreife erwarb. Nach einem Freiwilligen Sozialen Jahr in der Mobilien Häusliche Pflege in Berlin-Prenzlauer Berg nahm ich im Jahre 1997 an der Universität Leipzig das Studium der Humanmedizin auf, um es drei Jahre später an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel fortzusetzen, an der ich im November 2003 das dritte Staatsexamen ablegte.

Von April 2004 an war ich eineinhalb Jahre zunächst als Ärztin im Praktikum und seit Oktober 2004 als Assistenzärztin in der Klinik für Allgemeine Chirurgie und Thoraxchirurgie an der Universitätsklinik Schleswig- Holstein, Campus Kiel bei Herrn Professor Kremer tätig. Im Oktober 2005 verließ ich Kiel, um in der Inneren Medizin des Klinikums Bremen-Nord bei Herrn Professor Janka die klinische Zeit zur Weiterbildung Allgemeinmedizin fortzusetzen.

Im April 2007 heiratete ich Herrn Dr. med. Helge Ammenwerth. Im Juni 2007 wurde unsere Tochter geboren.

Der Beginn der in der vorliegenden Arbeit behandelten klinischen Studie war im Mai 2000. Die Rekrutierung der eingeschlossenen Patienten dauerte bis April 2003. Die Auswertung der klinischen Daten mit einem Beobachtungszeitraum von 2 Jahren war im Juni 2005 abgeschlossen. Niederschrift und Korrektur der Dissertation erfolgten bis Oktober 2008.
