Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
Charité-Virchow-Klinikum

Medizinische Fakultät der Humboldt Universität Berlin
(Direktor: Professor Dr. med. P. Neuhaus)

Die chronische Transplantatschädigung -Mechanismen, Risikofaktoren, Therapie-

HABILITATIONSSCHRIFT

zur Erlangung der Venia legendi
für das Fach Chirurgie

an der Charité
Medizinische Fakultät der
Humboldt-Universität zu Berlin

vorgelegt von
Dr. med. Stefan Günther Tullius

eingereicht: 11. Januar 2000
Datum der Habilitation: 17. Oktober 2000

Abstrakt

Chronische Transplantatabstossung - Pathophysiologie - Risikofaktoren - Therapieoptionen

Chronische Transplantatdysfunktionen kennzeichnen einen progredienten Funktionsverlust, der Monate bis Jahre nach der Transplantation auftritt. Dieser Vorgang ist in erster Linie verantwortlich für die unbefriedigenden Langzeitergebnisse nach Organtransplantationen. Die Pathophysiologe wird aktuell als multifaktorielles Geschehen verstanden. Hierbei spielen sowohl Alloantigen-spezifische, als auch Alloantigen-unspezifische Faktoren eine Rolle. Es kann angenommen werden, daß ein Zusammenspiel dieser Faktoren für den Langzeitschaden verantwortlich ist. Eine erfolgreiche Therapie ist zur Zeit nicht bekannt.

In der vorliegenden Arbeit wurden experimentelle Untersuchungen durchgeführt, die Zusammenhänge verschiedener Risikofaktoren darstellen. Als Risikofaktoren konnten insbesondere der Ischämie-/Reperfusionsschaden, das Verhältnis von Organmasse zu Körpergewicht sowie der Einfluss akuter Abstossungsreaktionen gezeigt werden. Weiterhin wurden Therapieansätze in experimentellen Modellen untersucht.

Zusammengefasst tragen diese experimentellen Untersuchungen wesentlich zu einem verbesserten Verständnis des chronischen Transplantatschadens als multifaktorielles Geschehen bei.

Abstract

Chronic rejection - pathophysiology - risk factors - therapy

Chronic graft rejection is defined as a progressive functional deterioration occurring months to years after engraftment. This process is predominantly responsible for the still unsatisfactory long-term results after organ transplantation. The pathophysiology is currently hypothesized as a multifactorial process involving both alloantigen-dependent and -independent events. Currently, there is no established therapy available.

In experimental models we followed various risk factors. Ischemia-/reperfusion injury, ratio of organ mass to body weight and acute rejection episodes have been shown to play a major role for the development of chronic graft rejection. In addition, various therapeutical strategies have been applied to treat this condition.

In summary, those experimental studies contributed to a better understanding of chronic graft rejection as a multifactorial process.

Inhalt

1. Einleitung 5

1.1. Merkmale des chronischen Transplantatschadens: 6

1.2. Pathophysiologie 8

1.3. Risikofaktoren 9
1.3.1. Alloantigen-unabhängige Faktoren 11
1.3.2. Alloantigen-abhängige Faktoren 14
1.3.3. Zusammenhänge zwischen Alloantigen-abhängigen und -unabhängigen Faktoren 14

1.4. Therapie des chronischen Transplantatversagens 15

2. Darstellung der eigenen Arbeiten 16

2.1. Analyse des Modells der chronischen Transplantatabstossung 16

2.2. Zellmigrations und -adhäsionsvorgänge in akuten und chronischen Abstossungsmodellen 17

2.3. Zusammenhänge Alloantigen-abhängiger und -unabhängiger Faktoren 18

2.4. Risikofaktoren der chronischen Transplantatabstossung 19
2.4.1. Einfluss Alloantigen-unabhängiger Faktoren 19
2.4.2. Einfluss Alloantigen-abhängiger Faktoren 20
2.4.2.1. Rolle akuter Abstossungsreaktionen 20

2.5. Therapeutische Ansätze 21
2.5.1. Prävention der chronischen Transplantatabstossung durch Toleranzinduktion 21
2.5.2. Therapie akuter und chronischer Abstossungen: 22
2.5.3. Beeinflussung des Ischämie/Reperfusionsschadens 23

3. Diskussion 23

3.1. Analyse des Modells der chronischen Transplantatabstossung 23

3.2. Zellmigrations und -adhäsionsvorgänge in akuten und chronischen Abstossungsmodellen 25

3.3. Zusammenhänge zwischen Alloantigen-abhängigen und -unabhängigen Faktoren 26

3.4. Alloantigen-unabhängige Einflüsse 27
3.4.1. Beobachtungen in Isotransplantaten 27

3.4.2. Einfluss des Ischämie/Reperfusionsschadens 28
3.4.3. Einfluss des Verhältnisses Transplantatmasse/Körpergewicht 30
3.4.4. Alloantigen-unabhängige Schädigungen nach der Transplantation 31

3.5. Alloantigen-abhängige Einflüsse 32
3.5.1. Die Rolle akuter Abstossungsreaktionen 32

3.6. Therapeutische Interventionen 36
3.6.1. Prävention der chronischen Transplantatabstossung durch Toleranz-Induktion 36
3.6.2. Therapie akuter und chronischer Abstossungsreaktion/ Therapie des Ischämie-/ Reperfusionsschadens 37

4. Zusammenfassung 39

5. Terminologie 42

5.1. Akute Abstossungen 42

5.2. Beschleunigte/Akzelerierte Abstossungen 42

5.3. Hyperakute Abstossungsreaktionen 43

5.4. Chronische Abstossungen/Chronische Transplantatdysfunktion 43

6. Abkürzungen 45

7. Literatur 46

8. Tierversuchsgenehmigungen 63

9. Danksagungen 64

10. Lebenslauf 65

1. Einleitung

Mit grosser Geschwindigkeit hat sich die Organtransplantation als Therapie der Wahl für den Ersatz irreversibel geschädigter Organe etabliert.

Die moderne Entwicklung der Organtransplantation begann 1954 mit der ersten erfolgreichen Nierentransplantation, die durch Joseph Murray in Boston, U.S.A. zwischen identischen Zwillingen durchgeführt wurde. Ein Ereignis, das eine Reihe erfolgreicher klinischer Transplantationsversuche nach sich zog, stimulierend auf eine grosse Anzahl bedeutender experimenteller Untersuchungen wirkte, und annähernd 30 Jahre später mit dem Nobelpreis für Medizin belohnt wurde. Innerhalb dieser 30 Jahre vollzog sich eine rasante Entwicklung der modernen Transplantationsmedizin.

Nierenallotransplantate wurden erstmals 1958 erfolgreich zwischen nicht-identischen Geschwistern unter dem Einsatz einer Ganzkörperbestrahlung übertragen. Nur einer von zwölf Patienten überlebte das aggressive Therapieschema, dies allerdings 25 Jahre lang.

Die erste erfolgreiche humane Lebertransplantation wurde 1967 durch Thomas Starzl in Denver durchgeführt, während im gleichen Jahr die erste erfolgreiche Herztransplantation durch Christian Bernard in Kapstadt erfolgte.

Entscheidenden Einfluss für den weiteren Fortschritt hatten, neben verbesserten operativen und perioperativen Behandlungskonzepten, besonders das zunehmende Verständnis transplantationsimmunologischer Prozesse sowie die Einführung neuer Immunsuppressiva.

Azathioprin wurde erstmals in den 60er Jahren eingesetzt und mit Kortikosteroiden kombiniert, deren anti-inflammatorische Eigenschaften bereits in den 50er Jahren entdeckt wurden. Anfang der 60er Jahre kamen Anti-Lymphozytensera erstmals zur Anwendung. In den 70er und 80er Jahren folgte dann die klinische Applikation von Cyclosporin A und FK 506 (Tacrolimus). Aktuell befinden sich weitere interessante Immunsuppressiva wie RS 61443 (CellCept), Rapamycin (Sirolimus) sowie eine Reihe monoklonaler Antikörper in vielversprechenden experimentellen und klinischen Untersuchungen oder bereits in klinischer Anwendung.

Alle diese Fortschritte trugen zu einer kontinuierlichen Verbesserung der Transplantatfunktion in der frühen Phase bei und lenkten gleichzeitig vermehrt das Interesse auf die noch unbefriedigenden Langzeitergebnisse.

Der zunehmende Verlust von Organtransplantaten nach Monaten bis Jahren, für den in erster Linie die chronische Transplantatdysfunktion verantwortlich gemacht wird, stellt eines der herausragenden aktuellen Probleme der Transplantationsmedizin dar.

Während einerseits die morphologischen und funktionellen Charakteristika dieses Prozesses sehr wohl bekannt sind, herrscht über die pathophysiologischen Mechanismen noch weitestgehend Unklarheit (1-4).

1.1. Merkmale des chronischen Transplantatschadens:

Eine progrediente Funktionseinschränkung, die Monate bis Jahre nach der Transplantation auftritt und schliesslich zum Funktionsverlust des Transplantates führt, wird üblicherweise als chronische Abstossung bezeichnet. Hierbei zeigen sich organübergreifende morphologische Veränderungen im Sinne einer progredienten Destruktion luminärer Strukturen, die organspezifisch im Bereich von Gefässen, Glomeruli, Gallengängen oder Bronchiolen dominieren (1-5, Tab.1).

Tab. 1: Morphologische Charakteristika der chronischen Transplantat-dysfunktion

Herz	Niere	Leber	Lunge
Mediaproliferation	Glomerulosklerose	"Vanishing bile duct" -Syndrom	Bronchiolitis obliterans
Arteriosklerose	Arteriosklerose	Arteriosklerose	
Fibrose	Tubuläre Atrophie		

Hierbei handelt es sich nicht um das Auftreten einer neuen Entität, vielmehr ist das chronische Transplantatversagen bereits seit vielen Jahren bekannt.

Bereits 1955 berichtete Hume über arteriosklerotische Veränderungen einhergehend mit einer progredienten Dysfunktion bei einem 6 Monate alten Empfänger eines Nierentransplantates (6). Zahlreiche Berichte über vergleichbare morphologische Veränderungen folgten bei der Langzeitbeobachtung von Nieren- (7-11), Herz- (12-15), Leber- (16-19) und Lungentransplantaten (20,21).

Morphologisch lassen sich klare Unterscheidungskriterien für akute und chronische Transplantatabstossungen definieren: Während ausgeprägte zelluläre Infiltrate sowie ödematöse und nekrotische Veränderungen als morphologisches Korrelat akuter Abstossungsreaktionen charakterisiert werden können, lassen sich die morphologischen Merkmale der chronischen Transplantatabstossung eher als proliferative Veränderungen beschreiben. Eine persistierende, zunächst gering ausgeprägte zelluläre Infiltration verbunden mit einer Expression von Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen und der Bildung chemotaktischer Faktoren führt zu einer zunehmenden zellulären Infiltration. Die Freisetzung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren verstärkt die Endothel- und Fibroblastenaktivierung, die schliesslich zu den organspezifischen Veränderungen führt (1-4).

Im folgenden werden die charakteristischen Veränderungen sowie Inzidenzen für die einzelnen Organe beschrieben.

<u>Niere:</u> Während eine kontinuierliche Verbesserung der 1-Jahresfunktion von Nierenallotransplantaten zu beobachten ist, zeigt sich gleichzeitig nur eine geringe Verbesserung der Langzeitfunktion. Aktuell werden 1-Jahresfunktionen von 87% erreicht (22). Die Hälfte der Nierentransplantate, die im Zeitraum von 1966-1975 durchgeführt wurden, stellten nach ca. 7.5 Jahren ihre Funktion ein (23). Hochrechnungen für Nierentransplantate, die

zwischen 1990 - 1993 durchgeführt wurden, zeigen eine mittlere Funktionsdauer von 9.4 Jahren (22,24).

Eine Analyse der Ursachen des späten Transplantatverlustes während der letzten 3 Jahrzehnte scheint von Bedeutung. Während in diesem Zeitraum Infektionen als Ursache des Transplantatverlustes an Einfluss verloren, nahm das Risiko kardiovaskulärer Komplikationen an Bedeutung zu (25). Diese Entwicklung ist möglicherweise mit einer besser angepassten Immunsuppression sowie einem veränderten Empfängerkollektiv zu erklären. Darüber hinaus steigt das Risiko für das Auftreten einer chronischen Transplantatdysfunktion nach einem ausreichend langen Beobachtungszeitraum, wenn andere Risikofaktoren als Grund für den Transplantatverlust wegfallen (26).

Definiert wird die chronische Transplantatdysfunktion der Niere anhand funktioneller und morphologischer Kriterien: Als charakteristische funktionelle Veränderungen werden eine Abnahme der glomerulären Filtrationsrate sowie des renalen Plasmaflusses neben einem Anstieg der Nierenretentionswerte und einer zunehmende Proteinurie beschrieben. Charakteristische morphologische Veränderungen, die in erster Linie neben der Funktionseinschränkung zur Diagnose herangezogen werden, umfassen konzentrische Stenosierungen der Nierenarterien unabhängig von der Kalibergrösse, eine progrediente Glomerulosklerose, tubuläre Atrophie sowie interstitielle Fibrose. Nur wenig Informationen liegen bisher über die Wertigkeit der Sonographie, Dopplersonographie sowie Szintigraphie vor, die im Rahmen der akuten Abstossung zur Diagnose genutzt werden.

Herz: Bis zu 50% der Herztransplantate entwickeln innerhalb von 7 Jahren charakteristische Zeichen der chronischen Transplantatdysfunktion, einhergehend mit einer Letalität von 25%. Wurde das Patientenüberleben nach unterschiedlichen Zeiträumen ausgewertet, zeigte sich zwar im Zeitraum von 1988-1993 eine signifikante Verbesserung gegenüber dem Beobachtungszeitraum von 1982-1987, wobei gleichzeitig jedoch in diesen Zeiträumen ein progredienter Transplantatverlust beobachtet wurde (27).

Histologisches Charakteristikum ist die sogenannte Transplantatvaskulopathie. Hierbei sind neben den für die chronische Transplantatdysfunktion klassischen konzentrischen arteriosklerotischen Veränderungen auch fokale Intima-Plaques im Sinne der typischen Ausprägung der Arteriosklerose zu finden. Als Folge sind sekundäre Myokardischämien oder -infarzierungen, Kardiomegalie, Herzinsuffizienz und ventrikulären Arrhythmien mit der möglichen Folge eines plötzlichen Herztodes zu beobachten (27,28). Der pektanginöse Schmerz fällt als klinisches Zeichen der Myokardischämie zumeist infolge der Denervierung des transplantierten Herzens aus. Zur Diagnosestellung steht die Koronarangiographie im Vordergrund. Endomyokardbiopsien, die im Rahmen der akuten Abstossung eine hohe diagnostische Wertigkeit haben, können bei der chronischen Dysfunktion nur eingeschränkt verwertet werden. Ebenso sind serologische Tests, wie z.B. die Troponin-T Bestimmung bei der akuten Abstossung, für die chronische Transplantatschädigung bisher nicht beschrieben worden.

Leber: Angaben über die Inzidenz von chronischen Abstossungen nach Lebertransplantation variieren erheblich, wobei Häufigkeiten zwischen 1.8 und 16.8% beschrieben werden (29,30). Diese Angaben beruhen nicht nur auf unterschiedlichen Verläufen, sondern scheinen sowohl Ausdruck einer nicht ganz eindeutigen Definition, als auch einer häufig schwierigen morphologischen Zuordnung zu sein. Offenbar ist aber die Inzidenz chronischer Abstossungsreaktionen bei Lebertransplantaten geringer als bei Herz- oder Nierentransplantaten. Eine geringere Immunogenität des Lebertransplantates

könnte in diesem Zusammenhang neben einem ausgeprägtem Regenerationsvermögen eine Rolle spielen. Als charakteristisches Zeichen findet sich ein progredienter Anstieg der Cholestase-Parameter sowie der Transaminasen. Morphologisches Korrelat ist neben arteriosklerotischen Veränderungen das sogenannte 'vanishing bile duct syndrome' oder die 'duktopenische Form' der Abstossung mit bevorzugter Lokalisation im Bereich der kleineren interlobulären Gallengänge (30).

Lunge, Pankreas, Dünndarm: Über chronische Transplantatverluste dieser Organe ist bisher nur wenig bekannt. Bei Lungentransplantaten finden sich unspezifische Zeichen wie eine progrediente Kurzatmigkeit sowie eine abnehmende Leistungskapazität. Zur Beschreibung der morphologischen Veränderungen wurde der Begriff 'Bronchiolitis obliterans' geprägt, der die charakteristische diffuse Obstruktion der terminalen Bronchiolen beschreibt (31).

Pankreastransplantate, insbesondere in Kombination mit Nierentransplantaten zeigen zunehmend verbesserte 1-Jahres Funktionsraten (ca. 75%), jedoch gibt es nur wenig Informationen bezüglich der Langzeitfunktion (32). Neben einer zunehmenden Funktionseinschränkung werden als morphologische Kriterien arteriosklerotische Veränderungen, Infarktareale sowie Fibrosierungen beschrieben (33).

Ebenso liegen bisher nur wenig Informationen über den Langzeitverlauf von Dünndarmtransplantaten vor. In klinischen und experimentellen Untersuchungen wird eine prolongierte Diarrhoe einhergehend mit einer Anorexie beschrieben. Morphologisch zeigt sich eine progrediente Zerstörung der Peyer'schen Plaques mit Infiltration und Arteriosklerose der Mesenterialgefässe (34,35).

1.2. Pathophysiologie

Traditionell wurde die chronische Transplantatabstossung als humoral vermittelter Prozess verstanden, da insbesondere Immunglobulin-Ablagerungen mit den beobachteten morphologischen Veränderungen der Arterio-, bzw. Glomerulosklerose assoziiert waren (1-4). Es bleibt aber unklar, ob es sich dabei um einen spezifischen gegen das Alloantigen gerichteten Prozess oder aber um eine unspezifische Reaktion handelt, die möglicherweise nur eine veränderte Gefässpermeabilität repräsentiert. In einigen experimentellen Untersuchungen wurde der Einfluss von gegen den Empfänger gerichteten Antikörpern durch Transfer Experimente gezeigt (36-38). In eigenen Untersuchungen konnten zum Zeitpunkt der stärksten Ausprägung funktioneller und morphologischer Veränderungen keine signifikant erhöhten Antikörperkonzentrationen gemessen werden (39).

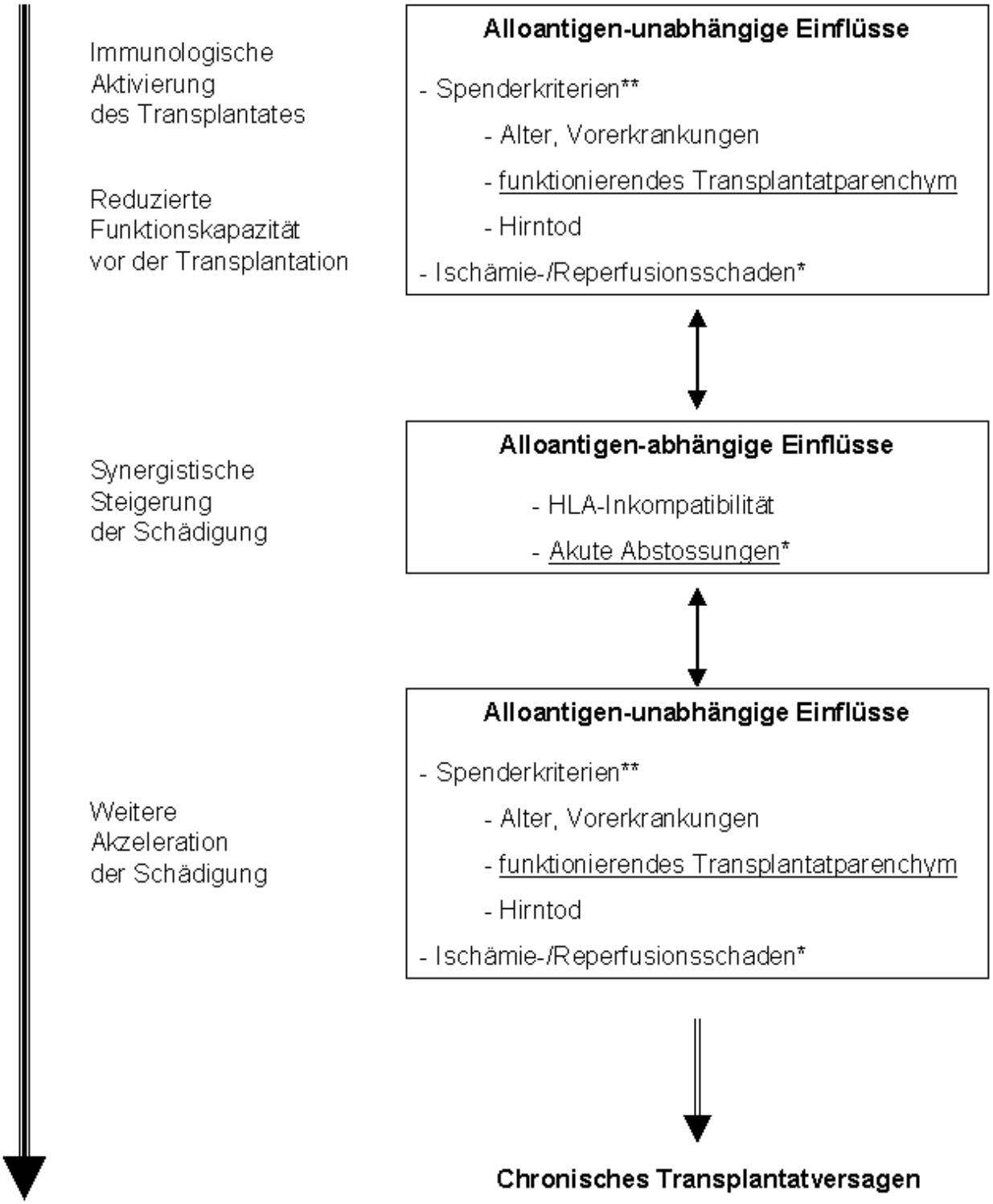
Es ist davon auszugehen, dass ein multifaktorielles Geschehen der chronischen Transplantatdysfunktion zu Grunde liegt. Hierbei scheinen Alloantigen-abhängige und eine Vielzahl Alloantigen-unabhängiger Risikofaktoren eine Rolle zu spielen.

Pathophysiologisch scheint die Aktivierung von Adhäsionsmolekülen mit einer Infiltration zirkulierender Monozyten und Lymphozyten eine Rolle zu spielen. Die Freisetzung verschiedener Zytokine könnte einerseits proliferierend auf die infiltrierenden Zellen wirken und zum anderen einen mitogenen Einfluss auf Zellen der glatten Muskulatur haben.

1.3. Risikofaktoren

Die Qualität des Transplantates wird bereits vor der Organentnahme u.a. durch Spenderkriterien, Intensivtherapie und -dauer sowie noch ungeklärte Vorgänge des Hirntodes beeinflusst. Ein sich der Organexplantation anschliessender Ischämie-/Reperfusionsschaden und die Dauer der kalten und warmen Ischämie tragen zu einer weiteren Schädigung bei. Hierbei kann postuliert werden, dass das 'vorgeschädigte' Organ zum Zeitpunkt der Transplantation bereits immunologisch aktiviert ist. Nach der Transplantation erlangen insbesondere spezifische Alloantigen-abhängige Faktoren eine zunehmende Bedeutung, wobei Zusammenhänge zwischen immunologisch spezifischen und unspezifischen Risikofaktoren zu postulieren sind (Abb. 1).

Abb. 1: Risikofaktoren des chronischen Transplantatversagens



**Risikofaktoren, die in experimentellen Untersuchungen als Teil dieser Habilitationsschrift untersucht wurden.*

***Der Einfluss von Spenderkriterien wird in aktuellen Untersuchungen, die nicht Teil dieser Habilitationssschrift sind, verfolgt.*

Im folgenden werden die Einflüsse der einzelnen Risikofaktoren insbesondere im Bezug auf die durchgeführten Untersuchungen beschrieben.

1.3.1. Alloantigen-unabhängige Faktoren

Zahlreiche klinische und experimentelle Untersuchungen belegen den Einfluss Alloantigen-unabhängiger Faktoren, wobei ein akzelerierender, bzw. synergistischer Zusammenhang mit Alloantigen-abhängigen Faktoren vermutet werden kann.

Das Auftreten charakteristischer Zeichen der chronischen Transplantatabstossung wurde zuvor in der Situation der humanen Nierentransplantation zwischen identischen Zwillingen beobachtet (40). Bei klinischen Untersuchungen zeigte sich, dass ca. 40% der Nierentransplantate zwischen eineiigen Zwillingen nach 10 Jahren ihre Funktion einstellten. Diese Beobachtungen versuchte man einerseits mit einem Wiederauftreten der Grunderkrankung, andererseits jedoch auch mit einer nicht näher beschriebenen Schädigung durch die Transplantation per se zu erklären (41,42).

<u>Beeinflussung der Qualität des Spenderorganes</u>

Der Einfluss des Spenderalters auf die Qualität des Transplantates wurde in zahlreichen klinischen Untersuchungen belegt (43-51). Die für die klinische Spenderauswahl bestehenden Altersgrenzen beruhen hierbei auf empirischen Angaben, wobei Zusammenhänge zwischen Spenderalter und weiteren Risikofaktoren (Ischämie-/Reperfusionsschaden) oder besonderen Spender-/Empfängerkonstellationen unklar bleiben. Aktuelle Untersuchungen bestätigen die bedeutende Rolle des Spenderalters für die Langzeitprognose (52). Als Ursache wird u.a. ein inadäquates Verhältnis zwischen Transplantatmasse und Körpergewicht des Empfängers diskutiert. (53,54). Neben dem Spenderalter spielt das Empfängeralter eine Rolle für die Langzeitprognose. Interessanterweise scheinen irreversible akute Abstossungen bei älteren Empfängern eine geringere Häufigkeit zu haben (55).

Aktuelle klinische Untersuchungen, in denen Organe älterer Spender an ältere Empfänger im lokalen Bereich vermittelt werden, versuchen diesen Analysen Rechnung zu tragen.

<u>Einfluss der Anzahl funktionierender Nephrone</u>

Viele der charakteristischen Zeichen der chronischen Transplantatabstossung werden auch bei anderen Krankheitsbildern mit einer Reduktion der Organmasse gefunden. So werden vergleichbare Veränderungen auch bei Patienten mit Diabetes mellitus, Glykogen Speicher Krankheit (Typ I), Sichelzell-Anämie und unilateraler renaler Agenesie beobachtet (56). Nach chirurgischer Resektion von mehr als 50% der Nierenmasse wurden eine erhöhte Proteinurie, eine arterielle Hypertension sowie eine progrediente Glomerulosklerose beobachtet (57). In einer Langzeituntersuchung von Nierenspendern mit einer verbliebenen Einzelniere wurde zwar kein progredienter Funktionsverlust beobachtet, jedoch zeigten einige Spender eine Proteinurie sowie eine arterielle Hypertonie (58).

Nierentransplantate sehr junger (< 3 Jahre) oder älterer (> 60 Jahre) Spender zeigen ebenso wie Nieren weiblicher Organspender in einigen, wenn auch nicht in allen, Untersuchungen schlechtere Langzeitergebnisse (56,59).

Als pathophysiologische Grundlage des Einflusses der Nierenmasse auf den Langzeitverlauf des tranplantatierten Organes wird eine progrediente Hyperfiltration der reduzierten Nephronenzahl postuliert (56). Eine chronische Hyperfiltration könnte dann zu einer weiteren glomerulären Schädigung führen und so einen Circulus virtiosus unterhalten.

Eine bereits prae-transplantationem bestehende, bzw. post-transplantationem wiederauftretende arterielle Hypertonie konnte als Risikofaktor nachgewiesen werden (59). Es bleibt in diesem Zusammenhang jedoch unklar, ob es sich hier um ein Wiederauftreten der Grunderkrankung handelt oder ob eine durch den chronischen Transplantationsschaden hervorgerufene Arteriosklerose als ursächlich anzusehen ist.

Hirntod

In jüngster Zeit werden über die bereits diskutierten Einflussgrössen hinaus, Auswirkungen des Hirntodes auf die Transplantatqualität beschrieben. Die Folgen dieses Ereignisses auf die Transplantatfunktion sind in einem jüngsten Übersichtsartikel beschrieben (60). Insbesondere endokrinologische Veränderungen mit einer Ausschüttung hypophysärer Hormone sowie einer Reduzierung von Cortisol, Insulin und Schilddrüsenhormonen werden als relevante Einflussgrössen diskutiert. In diesem Zusammenhang scheint insbesondere die Unterbrechung der Hypothalamus-Hypophysen Achse von Bedeutung zu sein (61-67). Daneben wurden kardiologische Veränderungen sowie mononukleäre Zellinfiltrationen als Folge des Hirntodes beschrieben (60,68). Erste experimentelle Untersuchungen zeigen eine erhöhte Anzahl akuter Abstossungsreaktionen im Vergleich zu Lebendspendern sowie eine Aktivierung pro-inflammatorischer Gene als Folgen des Hirntodes (69,70).

Interessanterweise zeigten Herztransplantate, die von nicht-hirntoten Pavianen entnommen wurden, nach einer verlängerten Ischämiezeit eine sofortige Transplantatfunktion, während Herztransplantate in experimentellen und klinischen Untersuchungen nach Eintreten des Hirntodes bei vergleichbarer Ischämiedauer eine verzögerte Transplantatfunktion aufwiesen (71-73). In einer experimentellen Untersuchung zeigten Nierentransplantate hirntoter Ratten eine reduzierte Langzeitfunktion (74). Folgen des Hirntodes könnten, neben den bereits diskutierten Faktoren, für eine weitere Reduzierung der Transplantatqualität verantwortlich sein.

Ischämie und Reperfusionsschaden

Der Einfluss des Ischämie- und Reperfusionsschadens auf die Transplantatfunktion wurde in zahlreichen klinischen und experimentellen Arbeiten beschrieben (Übersicht in: 75). Pathophysiologisch wird hierbei die Aktivierung einer Kaskade von Adhäsionsmolekülen, Zytokinen/Chemokinen und Wachstumsfaktoren angenommen. Experimentelle Studien konnten zeigen, dass es in Folge des Ischämie-/Reperfusionsschadens zu einer verstärkten Expression von Adhäsionsmolekülen sowie pro-inflammatorischen Zytokinen mit der Folge einer Infiltration von Granulozyten, Monozyten/Makrophagen sowie T-Lymphozyten kommt. Diese Vorgänge scheinen sowohl mit der Dauer der ischämischen Schädigung, als auch mit der zur Verfügung stehenden Organmasse in Zusammenhang zu stehen (76-79).

Klinisch und experimentell ist der Einfluss einer verlängerten Ischämie auf die initiale Transplantatfunktion sowie auf die Langzeitfunktion des Transplantates beschrieben (43,44,49,50,80,81). Die Zusammenhänge zwischen einer verlängerten Ischämiezeit und

weiteren unspezifischen Schädigungen bei Leichennierentransplantaten wurden in einer klinischen Untersuchung gezeigt. Diese Studie demonstrierte eine verbesserte Langzeitfunktion von Transplantaten nicht-verwandter Lebendspender gegenüber Transplantaten hirntoder Spender bei vergleichbarer HLA-Inkompatibilität (82).

Es ist vorstellbar, dass die Dauer des Ischämie-/Reperfusionsschadens insbesondere bei vorgeschädigten Transplantaten von Bedeutung ist.

Einfluss der Immunsuppression

Der Einfluss der immunsuppressiven Therapie auf die Entwicklung einer chronischen Abstossung wird kontrovers diskutiert. Sowohl Cyclosporin A als auch FK 506 haben eine nephrotoxische Wirkung. Eine zu niedrige, inadäquate Immunsuppression stellt jedoch andererseits einen Risikofaktor dar und führt möglicherweise zu subklinischen Abstossungsreaktionen (83). Nieren herztransplantierter Patienten zeigten eine durch Cyclosporin induzierte Schädigung mit nachfolgenden glomerulosklerotischen Veränderungen und einer progredienten Funktionseinschränkung (84). Experimentelle und klinische Untersuchungen legen ebenso den Schluss nahe, dass eine Cyclosporin Therapie arteriosklerotische Veränderungen bewirken kann (85). Jedoch wurde in der klinischen Situation eine progrediente Sklerosierung der Koronararterien herztransplantierter Patienten unabhängig von einer Immunsuppression mit Cyclosporin gefunden (28). Welche Mechanismen für eine potentielle Rolle von Cyclosporin auf die Entwicklung einer Arteriosklerose verantwortlich sind, bleibt dabei unklar.

Zusätzlich könnten Nebenwirkungen der Langzeitgabe von Steroiden, wie die Entstehung eines Diabetes mellitus, Lipid Anomalien sowie eine Hypercholesterinämie zu den chronischen Funktionseinschränkungen beitragen.

Einfluss einer Protein- und Lipidrestriktion

Es konnte gezeigt werden, dass eine dietätische Proteinrestriktion zu einer verbesserten Langzeitfunktion von Nierentranplantaten führt (86). Ebenso wurde eine Hyperlipidämie mit dem Auftreten einer Transplantationsarteriosklerose bei Herztransplantaten in Zusammenhang gebracht (28). Es ist bekannt, dass eine Hypercholesterinämie zu Endothelschädigungen, Thrombozytenaggregation und Lipideinlagerungen führen kann. Tierexperimentelle Untersuchungen, bei denen Empfängern von Herztransplantaten eine cholesterinreiche Nahrung gefüttert wurde, zeigten jedoch keine signifikante Zunahme der Arteriosklerose (87).

Infektionen

Es ist vorstellbar, dass Abstossungsreaktionen durch bakterielle oder virale Infekte aktiviert oder beschleunigt werden können.

Cytomegalie-Virus Infektionen sind verantwortlich für eine nicht unbedeutende Anzahl von Komplikationen nach der Organtransplantation. Eine mögliche Rolle dieser Infektion wird auch im Zusammenhang mit der chronischen Transplantatabstossung diskutiert (88,89). Untersuchungen von Myokardbiopsien herztransplantierter Patienten zeigten eine durch Cytomegalie-Viren hervorgerufene Immunaktivierung und Entzündung des Endothels, die einen potentiellen Zusammenhang zum Auftreten einer Transplantationsarteriosklerose darstellen könnten (90). Die Induktion eines Glykoproteins mit Homologie des MHC I Antigens sowie die Expression des Adhäsionsmoleküles VCAM-1 auf Endothelzellen könnten pathophysiologisch in diesem Zusammenhang von Bedeutung sein (90,91).

1.3.2. Alloantigen-abhängige Faktoren

Als stärkstes Argument für diese Hypothese spricht das frühere und stärkere Auftreten der charakteristischen Zeichen der chronischen Abstossung bei Allotransplantaten im Vergleich zu Isotransplantaten. Unter den potentiellen Risikofaktoren scheinen akute Abstossungsreaktionen eine herausragende Rolle zu spielen (83,92,93). So korrelierte die Anzahl akuter Abstossungsreaktionen bei nierentransplantierten Patienten mit dem Risiko einer chronischen Dysfunktion. Diese Korrelation bleibt auch nach scheinbar erfolgreicher Therapie der akuten Abstossungsperioden bestehen (93).

Es ist denkbar, dass akute Abstossungsreaktionen trotz vermeintlich ausreichender Immunsuppression auf einem "subklinischen" Niveau persistieren und so eine chronische Transplantatdysfunktion bewirken.

Ebenso ist es jedoch vorstellbar, dass das funktionierende Nierenparenchym in Folge wiederholter Abstossungsepisoden derart reduziert wird, dass eine Arbeitsüberlastung im Sinne eines Alloantigen-unabhängigen Prozesses resultiert.

Der Grad der Übereinstimmung der HLA-Merkmale scheint einen Einfluss auf die Langzeitfunktion zu haben. So zeigen Nierentransplantate von verwandten Spendern weniger häufig chronische Abstossungsreaktionen (94,95). Aktuelle Untersuchungen zeigen eine signifikant verbesserte Langzeitfunktion bei HLA-kompatiblen Spender/Empfängerpaaren (52). Jedoch könnte in diesem Zusammenhang auch ein optimiertes perioperatives Management einen Einfluss haben. Nieren mit chronischer Transplantatschädigung zeigten neben gehäuften akuten Abstossungsreaktionen auch eine verlängerte Ischämiezeit (96).

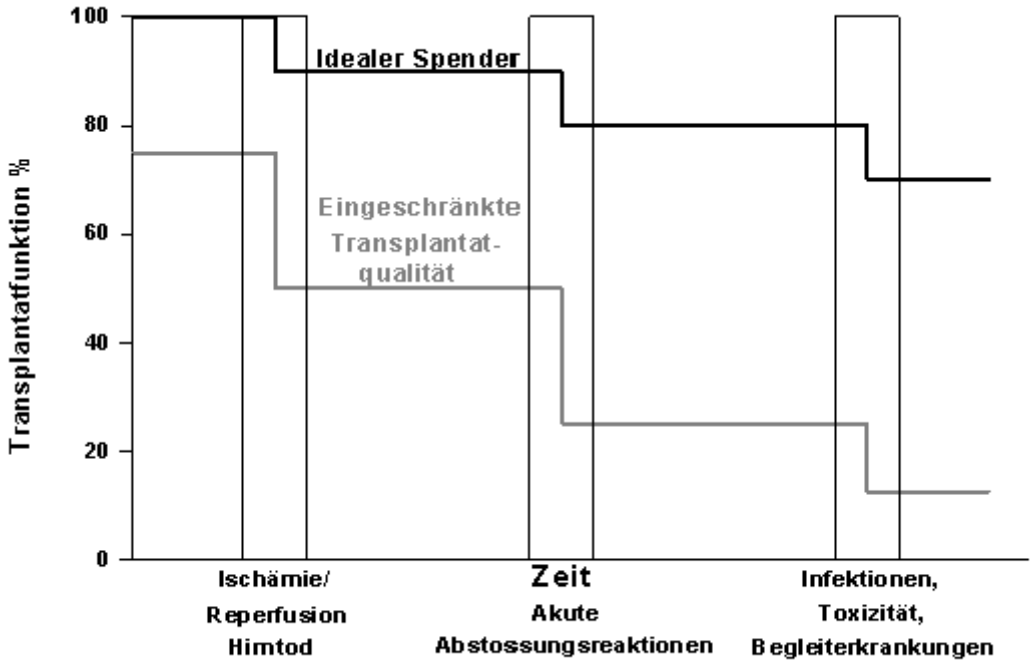
1.3.3. Zusammenhänge zwischen Alloantigen-abhängigen und -unabhängigen Faktoren

Bei der Analyse der Risikofaktoren der chronischen Transplantatdysfunktion kann davon ausgegangen werden, dass das Spenderorgan bereits vor der Entnahme einer nicht unerheblichen Anzahl von Vorschädigungen ausgesetzt ist.

Den verschiedenen Risikofaktoren kann sowohl ein isolierter Einfluss, als auch ein sich gegenseitig beeinflussender addititiver oder synergistischer Effekt zukommen. Es kann angenommen werden, dass insbesondere Organe reduzierter Qualität zum Zeitpunkt der Transplantation neben einer Funktionseinbusse unspezifisch aktiviert sind (Endothelaktivierung; Aktivierung lokaler Entzündungszellen wie Makrophagen, Mastzellen; hohe Beanspruchung des Parenchyms). Weitere Alloantigen-unabhängige Schädigungen während der Organentnahme sowie Alloantigen-abhängige und -unabhängige Vorgänge nach der Transplantation können dann zu einer Reduzierung der Langzeitfunktion beitragen (Abb. 2).

So konnte gezeigt werden, dass eine verlängerte Ischämiezeit sowohl mit einer erhöhten Rate initialer Nicht-Funktionen als auch mit einer erhöhten Rate akuter Abstossungsreaktionen assoziiert war (97-99).

Abb. 2: Einfluss der Transplantatqualität



1.4. Therapie des chronischen Transplantatversagens

Aktuell steht keine erfolgreiche, etablierte Therapie des chronischen Transplantatversagens zur Verfügung, wenngleich über einige interessante experimentelle Untersuchungen berichtet wurde. Als Konzepte bieten sich eine Reduzierung der durch Alloantigen-unabhängige Faktoren bedingten unspezifischen Schädigungen, neben einer erfolgreichen Therapie akuter Abstossungen an. Von Bedeutung erscheint in diesem Zusammenhang eine Korrelation zwischen der Anzahl akuter und chronischer Abstossungsreaktionen (83,92,93). Während einerseits diese Korrelation nach scheinbarer erfolgreicher Therapie bestehen blieb , zeigt eine andere Untersuchung, daß der Erfolg der Therapie akuter Abstossungsreaktionen gemessen an der Verbesserung der Funktionsparameter, zu einer verbesserten Langzeitfunktion führt (100). In diesem Zusammenhang ist auch die erfolgreiche Therapie spät auftretender akuter Abstossungsreaktionen, die mit Corticosteroiden und Anti-Thymozyten-Globulin (ATG) beherrscht werden konnten, zu erwähnen (101).

Weitere theoretische Therapieoptionen bieten die Beeinflussung Alloantigen-unabhängiger Prozesse, wie eine Behandlung des Ischämie-/Reperfusionsschadens oder eine Therapie des Spenders zur Reduzierung unspezifischer inflammatorischer Vorgänge im Transplantat vor der Organentnahme.

In experimentellen Modellen konnte mit den Immunsuppressiva Rapamycin und Mycophenolat Mofetil eine Reduzierung Alloantigen-spezifischer und -unspezifischer Schädigungen beschrieben werden (102,103).

Eine symptomlose Cytomegalievirus-Infektion konnte bei nierentransplantierten Patienten mit späten akuten Abstossungsreaktionen, die durch Steroide oder ATG nicht zu beeinflussen waren, erfolgreich mit Ganciclovir behandelt werden (104)

Interessant erscheinen aktuelle experimentelle Untersuchungen mit CTLA4Ig, einem Fusionsprotein, das eine Blockierung der CD28-B7 vermittelten Ko-Stimulation bewirkt. Hier konnten in Herz- wie in Nierentransplantationsmodellen die Entwicklung einer chronischen Transplantatdysfunktion, bzw. deren Fortschreiten verhindert werden (105-107).

Zusammenfassend erscheint nach dem aktuellen Wissensstand eine Optimierung der Therapie akuter Abstossungen sowie eine Minimierung der Schäden in Folge Alloantigen-unspezifischer Schädigungen von Bedeutung.

2. Darstellung der eigenen Arbeiten

2.1. Analyse des Modells der chronischen Transplantatabstossung

- *Hancock WW, Whitley WD, Tullius SG, Heemann UW, Wasowska B, Baldwin WM, Tilney NL: Cytokines, adhesion molecules, and the pathogenesis of chronic rejection of rat renal allografts. Transplantation 1993; 56: 643.*

Bereits 1969 wurde von White und Hilderman ein experimentelles Nierentransplantationsmodell in der Ratte beschrieben, in dem die klinisch relevanten funktionellen und strukturellen Veränderungen der chronischen Transplantatschädigung zu beobachten waren. Dieses Modell wurde von uns erneut aufgegriffen und in einer Analyse der pathophysiologischen Vorgänge beschrieben. Die beschriebene Spender-/ Empfängerkombination wird durch sogenannte schwache Histokompatibilitätsunterschiede charakterisiert. In diesem Modell ist eine initiale Gabe einer geringen Immunsuppression notwendig, um frühe akute Abstossungsreaktion zu therapieren. In unserer initialen Versuchsanordnung wurde Cyclosporin A in einer Dosierung von 5 mg/kg über einen Zeitraum von 10 Tagen verabreicht. Bei diesem Vorgehen entwickeln sich nach einem Zeitraum von ca. 3-4 Monaten charakteristische funktionelle und morphologische Veränderungen, die denen in humanen Nierentransplantaten entsprechen. In der Analyse unseres Modells konnten wir zu diesem Zeitpunkt charakteristische strukturelle Veränderungen wie Glomerulo- und Arteriosklerose, tubuläre Atrophie und interstitielle Fibrose nachweisen. Flowcytometrische Untersuchungen zeigten eine ausgeprägte humorale Immunantwort in der Frühphase mit hohen IgG und IgM Antikörper-Spiegeln. Nach 12 Wochen zeigten immunhistolgische Untersuchungen ausgeprägte zelluläre Infiltrate sowie den Nachweis zahlreicher Zytokine. Hierbei spielte insbesondere die Infiltration CD-4+ T-Lymphozyten sowie ED-1+ Monocyten/Makrophagen eine Rolle. Doppelfärbungen zeigten eine Aktivierung dieser Zellen durch eine gleichzeitige Anfärbung des IL-2 Rezeptors. Ebenso zeigte sich eine ausgeprägte Expression von TNF-α, IL-1 und IL-6. Hierbei zeigte sich die Expression von IL-6 vor allen Dingen in den Glomeruli lokalisiert. Pathophysiologisch könnte diese Beobachtung von besonderer Relevanz sein, da IL-6 einen mitogenen Effekt auf mesangiale Zellen besitzt. Gleichzeitig zeigte sich parallel zu einer erhöhten zellulären Infiltration eine Zunahme von Adhäsionsmolekülen als möglicher Vermittler der Infiltrate.

Diese Untersuchung zeigte, daß neben den bereits früher von anderen Arbeitsgruppen diskutierten humoralen Einflüssen auch zelluläre Prozesse, die parallel zu einer Expression von Zytokinen und Adhäsionsmolekülen auftreten, eine Rolle in der Pathophysiolgie der chronischen Transplantaschädigung spielen.

2.2. Zellmigrations und -adhäsionsvorgänge in akuten und chronischen Abstossungsmodellen

- *Tullius SG, Heemann UW, Zeilinger K, Azuma H, Tamatami T, Miyasaka M, Tilney NL et al.: Binding of lymphocytes to acutely rejecting rat kidney allografts in vitro is guided by events in the graft itself rather than by sensitization of host lymphocytes Transplantation Immunology 1995; 3: 91.*

- *Heemann UW, Tullius SG, Tamatami T, Miyasaka M, Milford E, Tilney NL: Infiltration patterns of macrophages and lymphocytes in chronically rejecting rat kidney allograft Transplantation International 1994; 7: 349.*

Zelladhäsionen und -migrationen spielen auch in der Transplantationsmedizin eine wichtige Rolle. Eigene Arbeiten sowie die anderer Autoren konnten zeigen, daß Zellinfiltrationen parallel zu einer Expression von Adhäsionsmolekülen zu beobachten waren. Andere Arbeitsgruppen konnten durch eine Antikörpergabe gerichtet gegen die Adhäsionsmoleküle ICAM-1 und LFA-1 die Entwicklung einer Toleranz im Mausmodell zeigen.

Wir untersuchten zunächst Zelladhäsionen in einer Spender-/Empfängerkombination mit ausgeprägter Histoinkompatibilität durch ein sogenanntes 'in vitro Bindung Assay'. Dieses Assay beschreibt eine Methode bei der Zellpopulationen auf einen Organschnitt aufgetragen werden. Durch Zugabe unterschiedlicher Populationen auf Organschnitte, die sich sowohl bezüglich ihrer Aktivierung, als auch durch ihren genetischen Hintergrund unterscheiden, lassen sich Zelladäsionen unter unterschiedlichen Bedingungen betrachten. Gleichzeitig lässt eine Blockade bestimmter Adhäsionsmoleküle Rückschlüsse auf die Rolle der jeweiligen Adhäsionsmoleküle zu. In dieser Versuchsanordnung konnten wir zeigen, daß die Bindung von T-Lymphozyten an ein Nierentransplantat nicht durch die Aktivierung der Zellpopulation, sondern durch die Aktivierung des Transplantates bestimmt war. So wurde eine ausgeprägte Adhäsion von nativen Zellen auf Allotransplantaten beobachtet, während aktivierte Zellen eines Organempfängers nur zu einem geringen Ausmaß auf Isotransplanten oder auf syngenen nativen Organen adhärierten. Gleichzeitig zeigte sich eine Dynamik der Zelladhäsionen parallel zu einer zunehmenden Transplantatschädigung. Eine Gabe von Antikörpern gerichtet gegen ICAM-1 und LFA-1 zeigte eine Reduzierung der Zelladhäsion in unserem in vitro Assay. Diese Untersuchungen deuteten auf die besondere Rolle der Transplantataktivierung zur Initierung einer Zelladhäsion hin.

Zelladhäsionen wurden ebenso in dem bereits beschrieben in vitro Assay in einem chronischen Abstossungsmodell untersucht. Hierbei wurden Präparate von Nierentransplantaten zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Transplantation mit Monozyten sowie Lymphozyten in Kontakt gebracht. Es zeigte sich, daß die in-vitro

Adhäsion von Monozyten ihren Gipfel nach 12 Wochen erreichte und somit dem Gipfel der immunhistologisch nachgewiesenen Monozyten-/Makrophagen Infiltration sowie der morphologischen Veränderungen vorausging. Auch in diesem Modell konnte die zelluläre Infiltration durch die Gabe von Antikörpern gegen ICAM-1 und LFA-1 reduziert werde.

Diese Untersuchungen zeigten die bedeutende Rolle von Adhäsionsmolekülen bei der Entstehung der chronischen Transplantatabstossung. Gleichzeitig zeigte die Blockade der zellulären Bindung durch eine Antikörper Gabe eine mögliche Therapie.

2.3. Zusammenhänge Alloantigen-abhängiger und -unabhängiger Faktoren

- *Tullius SG, Hancock WW, Heemann UW, Azuma H, Tilney NL.: Reversibility of chronic renal allograft rejection. Transplantation 1994; 58: 93.*

Zum Zeitpunkt der Durchführung dieses Experimentes spielte die Frage, ob der chronische Transplantationsschaden durch Alloantigen-abhängige Faktoren bestimmt wird, eine bedeutende Rolle. Mittlerweile hat sich die Ansicht durchgesetzt, daß die Pathophysiolgie des chronischen Transplantationsschadens sowohl durch Alloantigen-abhängige, als auch Alloantigen-unabhängige Faktoren beeinflusst wird.

Der Einfluss Alloantigen-abhängiger Faktoren wurde durch ein Rücktransplantationsmodell überprüft. Hierbei wurden Nierentransplantate in dem bereits zuvor beschriebenen Transplantationsmodell der Spender-/ Empfängerkombination von Fischer-344 nach LEWIS durchgeführt. Diese Transplantate wiesen im weiteren Verlauf die charakteristischen Kriterien der chronischen Transplantatschädigung auf. Nierentransplantate wurden anschließend zu unterschiedlichen Zeitpunkten in ein Tier des ursprünglichen Spenderstammes 'rücktransplantiert'. Schließlich wurde durch eine Langzeitbeobachtung geprüft, ob die Zeichen der chronischen Schädigung in einem syngenen Empfängertier reversibel waren.

Tatsächlich zeigte sich eine komplette Reversibilität wenn eine Rücktransplantation bis zu einem kritischen Zeitpunkt durchgeführt wurde. Rücktransplantationen nach einem zeitlichen Intervall von (12 Wochen führten zu einer kompletten Reversibilität der Schädigungen in syngenen Empfängertieren. Rücktransplantation zu einem späteren Zeitpunkt konnten die bereits fortgeschrittenen Veränderungen nicht mehr beeinflussen. Darüber hinaus zeigten sich bei einer frühen Rücktransplantation, mit zunächst kompletter Reversibilität, zu einem späteren Untersuchungszeitpunkt, gering-gradige Zeichen einer chronischen Transplantatabstossung.

Die Veränderungen in rücktransplantierten und nicht-rücktransplantierten Organen wurden ausführlich durch quantifizierende histologische und immunhistologische Untersuchungen beschrieben und mit einer entsprechenden Versuchsanordnung in Isotransplantaten verglichen.

Diese, für die weiteren Untersuchungen richtungsweisenden Beobachtungen, zeigten eine bedeutende Rolle Alloantigen-abhängiger Faktoren in der Frühphase, während zu späteren Zeitpunkten der chronischen Transplantatabstossung der Einfluss Alloantigen-unabhängiger Faktoren zunahm.

2.4. Risikofaktoren der chronischen Transplantatabstossung

2.4.1. Einfluss Alloantigen-unabhängiger Faktoren

- *Tullius SG, Heemann U, Azuma H, Pradham P, Tilney NL: Early ischemic injury leads to long-term functional and morphologic deterioration of naive rat kidneys and may contribute to changes of chronic allograft rejection. Transplant Proc 1994; 26: 2041.*

- *Tullius SG, Heemann UW, Azuma H, Hancock WW, Pradham P, Tilney NL: Antigen-independent events mimic characteristic changes of chronic allograft rejection. Transplant Proc 1994; 27: 561.*

- *Tullius SG, Heemann UW, Azuma H, Pradham P, Tilney NL: Characteristic signs of chronic allograft rejection can be observed in mechanically manipulated naive rat kidneys over the long-term. Transplant Proc 1994; 27: 2131.*

- *Tullius SG, Heemann UW, Hancock WW, Azuma H, Tilney NL: Long-term kidney isografts develop functional and morphological changes that mimic those of chronic allograft rejection. Ann Surg 1994; 220: 425.*

- *Mackenzie HS, Tullius SG, Heemann UW, Azuma H, Rennke H, Brenner BM, Tilney NL: Nephron supply is a major determinant of long-term renal allograft outcome in rats. J Clin Invest 1994; 94: 2148.*

- *Heemann UW, Azuma H, Tullius SG, Mackenzie H, Brenner BM, Tilney NL: The contribution of reduced functioning kidney allograft dysfunction in rats. Transplantation 1994; 58: 1317*

- *Azuma H, Tullius SG, Heemann UW, Tilney NL: Non-immune factors may contribute to chronic rejection of kidney transplantants. Transplant Proc 1994; 26: 2109.*

- *Heemann UW, Tullius SG, Schmid C, Philipp T, Tilney NL: Infection-associated cellular activation accelerates chronic renal allograft rejection in rats. Transplantation International 1996; 9: 137.*

In unserer früheren Untersuchungen konnten wir zeigen, daß Alloantigen-unspezifische Faktoren eine bedeutende Rolle bei der Entwicklung der chronischen Transplantationsschädigung spielen.

Gleichzeitig hatten wir die Gelegenheit histologische Präparate der frühen klinischen Bostoner Nierentransplantationen zwischen identischen Zwillingen zu evaluieren. Diese Präparate zeigten die charakteristischen Zeichen der chronischen Transplantationsschädigung. Diese Beobachtungen wurden von uns anschließend in

einem experimentellen Isotransplantationsmodell im Rattenmodell untersucht. Tatsächlich zeigten Isotransplantate funktionelle und strukturelle Veränderungen der chronischen Transplantatschädigung. Diese Veränderungen entsprachen denen, die wir zuvor in einem Allotransplantationsmodell beschreiben konnten, wobei die Veränderungen in Isotransplanatataten nach einem späteren Zeitpunkt beobachtet wurden. Ebenso zeigten immunhistologische Veränderungen zelluläre Infiltrate und Zytokinexpressionen, die denen in Allotransplantaten zu einem früheren Zeitpunkt entsprachen. Ausgehend von diesen Befunden überprüften wir verschiedene Risikofaktoren und deren Einfluss auf die Langzeitfunktion.

Hierbei zeigten experimentelle Arbeiten den bedeutenden Einfluss des initialen Ischämie-/ Reperfuionsschadens. So zeigten sich ebenso nach einer ischämischen Schädigung nativer Nieren bei einer gleichzeitigen kontralateralen Nephrektomie charakteristische Langzeitschäden, die mit den Zeichen des chronischen Transplantatschadens vergleichbar waren. Diese Untersuchung belegte neben der Rolle des Ischämie-/Reperfusionsschadens auch den Einfluss des Verhältnisses zwischen Nierenmasse und Körpergewicht.

Die Bedeutung des Verhältnisses von Nierenmasse/Körpergewicht wurde in weiteren Untersuchungen überprüft. Diese Experimente zeigten, daß eine gleichzeitig vorhandenen kontralaterale Niere des Empfängertieres zu einer wesentlichen Reduzierung der Langzeitschäden beitrug. Weiterhin zeigten sich bei eine Transplantation von Nieren mit einer reduzierten Parenchymmasse eine Steigerung der chronischen Schäden sowohl in Allo-, als auch in Isotransplantaten.

Von Bedeutung erscheint weiterhin, daß T-Zell aktivierende Prozesse nach der Transplantation zu einer Steigerung der Schäden beitragen. In einem weiteren experimentellen Modell konnten wir durch die Gabe von Lipopolysacchariden (LPS) eine Steigerung der chronischen Transplantatabstossung beobachten.

Der Einfluss Alloantigen-unabhängiger Prozesse auf den chronischen Transplantatschaden konnte in allen vorgestellten Modellen durch funktionelle, morphologische und immunhistologische Kriterien belegt werden.

2.4.2. Einfluss Alloantigen-abhängiger Faktoren

2.4.2.1. Rolle akuter Abstossungsreaktionen

- *Tullius SG, Nieminen-Kelhä M, Bechstein WO, Jonas S, Steinmüller T, Qun Y, Pratschke J, Graser E, Sinha P, Volk, HD, Neuhaus P: Contribution of early acute rejection episodes in a rat kidney retransplantation model. Kidney Int 1998; 53: 465.*

- *Tullius SG, Graser E, Nieminen E,Reutzel-Selke A, Jonas S, Bechstein WO, Volk HD, Neuhaus P: Complete reversal of acute rejection episodes after syngeneic retransplantation is associated with a TH1/TH2 shift. Transplant Proc 1999; 31: 340.*

Zahlreiche klinische Untersuchungen zeigen den bedeutenden Einfluss akuter Abstossungsreaktionen auf die chronische Transplantatabstossung. Hierbei gibt es keine Übereinstimmung über den Einfluss des Zeitpunktes des Auftretens der akuten

Abstossung sowie bezüglich der histologischen Klassifizierung im Bezug auf die Langzeitschädigung.

Wir untersuchten die Auswirkungen akuter Abstossungsreaktionen auf den chronischen Transplantationsschaden in einem Rücktransplantationsmodell. In diesem Modell wurden Nierentransplantate in einer Spender-/Empfängerkombination mit ausgeprägter Histo-inkompatibilität durchgeführt. In dieser Versuchsanordnung kommt es zu einer frühen ausgeprägten akuten Abstossung mit einem Versterben der Tiere nach 14(2 Tagen. Nierentransplantate wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten in ein Tier des ursprünglichen Spenderstammes rücktransplantiert. Anschließend wurde eine mögliche Reversibilität der akuten Abstossung und deren Langzeitfolgen beobachtet. Es zeigte sich, daß die Schäden einer frühen akuten Abstossungsreaktion durch eine syngene Rücktransplantation vollständig umkehrbar waren. Hierbei zeigten 60% der Tiere, die 4 Tage nach der ursprünglichen Transplantation rücktransplantiert wurden, eine komplette Reversibilität der histologischen Schäden, während bei 40% der zu diesem Zeitpunkt durchgeführten Rücktransplantationen ein weiteres Fortschreiten der Schäden nicht verhindert werden konnte. Nach einer erfolgreichen Rücktransplantation konnten keine gesteigerten Langzeitschäden beobachtet werden. Diese Untersuchungen zeigten, daß die Schäden als Folge einer akuten Abstossungsreaktion nach einer kompletten Reversibilität nicht zu der Entwicklung einer chronischen Transplantschädigung beitragen.

Weiterführende Experimente in diesem Modell durch RT-PCR Untersuchungen zeigten, daß Transplantate, die nach einer Rücktransplantation eine Reversibilität der Zeichen einer akuten Abstossung zeigten, eine TH2-assoziierte Immunantwort aufwiesen. Im Vergleich dazu zeigten Transplantate mit einer akuten Abstossungsreaktion zum gleichen Zeitpunkt ein TH1-assoziiertes Zell-/ Zytokinmuster.

2.5. Therapeutische Ansätze

2.5.1. Prävention der chronischen Transplantatabstossung durch Toleranzinduktion

- *Tullius SG, Nieminen M, Bechstein WO, Jonas S, Steinmüller T, Pratschke J, Zeilinger K, Graser E, Volk HD, Neuhaus P: Chronically rejected rat kidney allografts induce donor-specific tolerance.Transplantation 1997; 64: 158.*

- *Tullius SG, Nieminen M, Bechstein WO, Jonas S, Rayes N, Qun Y, Volk HD, Neuhaus P: Development of tolerance in a chronic rejection model. Transplant Proc 1998; 30: 1075.*

- *Tullius SG, Nieminen M, Qun Y, Egermann F, Reutzel-Selke A, Jonas S, Pratschle J, Bechstein WO, Volk HD, Neuhaus P: Synergistic mechanisms of alloantigen-dependent and independent events in chronic graft rejection. Transplant Proc 1998; 30: 2411.*

Als Hypothese dieser Experimente postulierten wir initial eine Steigerung der chronischen Transplantatabstossung nach einem vorausgegangenem donor-spezifischen

Antigenkontakt. In Modellen einer akzelerierten Transplantatabstossung wird eine gesteigerte Abstossungsrate nach einem initialen Antigenkontakt für ein folgendes Organtransplantat beschrieben. In dem Nierentransplantationsmodell der Spender-/Empfängerkombination von F-344 und LEWIS Ratten führten wir Nierentransplantationen durch. Diese Transplantate wurden anschließend nach 2, 4, 8 und 12 Wochen entfernt. Zum gleichen Zeitpunkt wurde ein zweites Nierentransplant des gleichen Spenders übertragen. Überraschenderweise zeigte sich in diesem Modell keine gesteigerte Abstossungsreaktion. Vielmehr zeigten die Zweittransplantate eine Langzeitakzeptanz, wobei die typischen Kriterien der chronischen Transplantatschädigung ausblieben. Eine Immunsuppression wurde in diesem Modell nach der Zweittransplantation nicht durchgeführt. In weiteren Versuchen konnten wir zeigen, daß zusätzliche donor-spezifische Herztransplantate in einem Empfängertier eines Zweittransplantates akzeptiert wurden, während Fremdherztransplantate abgestoßen wurden. Weiterhin zeigte sich, daß die beobachtete Toleranz durch Milzzellen eines Ersttransplantatempfängers auf ein natives Tier zu übertragen war.

Diese Untersuchungen zeigten eine Allotransplantat-induzierte übertragbare Toleranz. Die Entwicklung chronischer Transplantatschäden in Nierenzweit-transplantaten wurde nicht beobachtet. In weiterführenden Untersuchungen konnten wir durch RT-PCR Analysen einen TH1/TH2 'shift' in Nierenzweittransplantaten beobachten. Als Mechanismus der Toleranzentwicklung postulieren wir die Induktion von Suppressorzellen durch das Ersttransplantat. Diese Beobachtungen deuten auf eine besondere Rolle Alloantigen-spezifischer Prozesse bei der Entwicklung der chronischen Transplantatabstossung sowie auf Zusammenhänge zwischen Alloantigen-spezifischen und -unspezifischen Einflüssen hin. Aktuell untersuchen wir die Mechanismen dieser Allotransplantat-induzierten Toleranz sowohl in einem Modell mit ausgeprägter, als auch in einem Modell mit schwacher Histoinkompatibilität.

2.5.2. Therapie akuter und chronischer Abstossungen:

- *Azuma H, Binder J, Heemann UW, Schmid C, Tullius SG, Tilney NL: Effects of RS 61443 on functional and morphological changes in chronically rejecting rat kidney allografts. Transplantation 1995; 59: 460.*

- *Utku N, Heinemann T, Tullius SG, et al.: Prevention of acute allograft rejection by antibody targeting of TIRC7, a novel T-cell membrane proteine. Immunity 1998; 9: 509)*

Von besonderer klinischer Relevanz ist die Abwesenheit einer etablierten Therapie für den chronischen Transplantatschaden. Für das Immunsuppressivum Mycophenolat Mofetil konnte in Untersuchungen anderer Autoren zuvor gezeigt werden, daß diese Substanz neben Alloantigen-spezifischen Schäden auch Alloantigen-unspezifische Schäden als Folge einer mechanischen Schädigung beeinflussen kann.

In einer Gruppe unseres Experimentes wurde die Therapie mit Mycophenolat Mofetil unmittelbar nach der Transplantation begonnen. In einer weiteren Gruppe begann die Therapie 8 Wochen nach der Transplantation, also zu einem Zeitpunkt zu dem erste Zeichen des chronischen Transplantatschadens zu beobachten sind. In beiden Therapiegruppen zeigte sich eine eindrucksvolle Reduzierung der chronischen

Transplantatschäden. Die Entwicklung einer Proteinurie blieb aus, während sich die typischen strukturellen Veränderungen erheblich verbesserten. Weiterhin zeigten sich eingeschränkte Zellinfiltrate bei einer reduzierten Expression von Adhäsionsmolekülen.

In einer weiteren Untersuchung konnte durch Differential Display Untersuchungen ein neues T-Zell Membran Protein gefunden werden, das sich nur auf aktivierten T-Zellen nachweisen ließ. In-vitro Untersuchungen konnten durch Gabe eines Antikörpers gegen TIRCR7 zeigen, daß eine T-Zell Proliferation und IL-2 Sekretion verhindert wird. Wir untersuchten diesen Antikörper in einem Nieren-transplantationsmodell mit ausgeprägter Histoinkompatibiltät. Durch eine Gabe des Antikörpers von Tag 0 bis Tag 6 konnte eine signifikante Verlängerung der Transplantatfunktion (7(2 vs. 56(12 Tage) erzielt werden. Gleichzeitig zeigten histologische Untersuchungen 7 Tagen nach der Transplantation nur einzelne infiltrierende Zellen, während die unbehandelte Kontrollgruppe ausgeprägte zelluläre Infiltrate aufwies.

2.5.3. Beeinflussung des Ischämie/Reperfusionsschadens

- *Dragun D, Tullius SG, Park JK, Maasch C, Lukitsch I, Lippoldt A, Groß V, Luft FC, Haller H: ICAM-1 antisense oligonucleotides prevent reperfusion injury and enhance immediate graft function in renal transplantation. Kidney Int 1998; 54: 590.*

- *Dragun D, Lukitsch I, Tullius SG, Qun Y, Park JK, Schneider W, Luft FC, Haller H: Inhibition of intercellular adhesion molecule-1 with antisense deoxynucleotides prolongs renal isograft survival in the rat. Kidney Int 1998; 54: 2113.*

Die Rolle des Ischämie-/Reperfusionsschadens auf die chronische Transplantatschädigung wurde sowohl in eigenen, als auch in zahlreichen klinischen und experimentellen Untersuchungen anderer Autoren gezeigt. Während des Ischämie-/Reperfuionsschadens kommt es zu einer durch Adhäsionsmoleküle vermittelten zellulären Infiltration. In zwei Versuchsanordnungen wurde die Rolle von ICAM-1 durch Antisense Oligonukleotide beeinflusst. Diesen Versuchen konnte eine signifikante Reduzierung der ICAM-1 Expression sowie eine Reduzierung der Leukozyten-Infiltration nach Gabe der Antisense-Oligonukleotide zeigen. Gleichzeitig konnten wir sowohl in dem untersuchten Autotransplantations- als auch in einem Isotransplantationsmodell eine verbesserte Überlebenszeit, Transplantatfunktion sowie reduzierte morphologische Schädigungen nachweisen.

3. Diskussion

3.1. Analyse des Modells der chronischen Transplantatabstossung

Zur Untersuchung der chronischen Transplantatdysfunktion der Niere wurde ein Rattenmodell in einer Spender-, Empfängerkombination von Fischer 344 (F-344, RT1v1) nach LEWIS (LEW, RT1) benutzt. Die männlichen Tiere waren zum Zeitpunkt der Operation ca. 3 Monate alt und 200-250 g schwer. In Nierenallotransplanten dieser Stammkombination finden sich, der humanen Situation vergleichbare, funktionelle und strukturelle Langzeitschäden. Dieses Modell wurde erstmals 1968 von White und

Hildemann beschrieben (108). In der initialen Beschreibung wurden die Histokompatibilitätsdifferenzen als ‚schwach' klassifiziert. Es ist mittlerweile bekannt, dass sich diese Spender-/Empfängerkombination in 2 MHC Klasse I Loci (RT1.C) und verschiedenen nicht MHC assoziierten Genen (RT6) unterscheidet. Hierbei zeigen sich Unterschiede der RT1.C Klasse I, die mit chronischen, jedoch nicht akuten Abstossungsreaktionen assoziiert sind (109). RT6, mit der früher üblichen Bezeichnung Ag-F, ist ein Non-MHC Antigen Marker für die meisten peripheren T-Zellen und entspricht der Thy-1Klassifizierung in der Maus (110). F-344 Ratten exprimieren RT1, während LEW RT6.2 exprimieren. Sowohl RT6+ als auch RT6- T-Zellen zeigen eine Alloreaktivität in vitro. Sie können zytotoxische Effektor Aktivitäten zeigen und IL-2 exprimieren, während RT6+ Zellen eine ausgeprägte Graft-versus-Host Antwort demonstrieren. Sowohl RT6+ als auch RT6- CD4+ T-Zellen, jedoch nicht CD8+ Zellen proliferieren in der gemischten Lymphozyten Reaktion.

Eine kurzfristige ‚low-dose' Immunsuppression ist bei Verwendung dieser Spender/ Empfängerkonstellation zur Unterdrückung einer frühen akuten Abstossungsreaktion notwendig. Während in früheren Untersuchungen in diesem Modell Cyclosporin A in einer Dosis von 5 mg/kg/KG verabreicht wurde, haben wir, wie auch andere Untersucher in jüngsten Untersuchungen eine Dosierung von 1.5 mg/kg/KG verwandt (39,111). Hierbei zeigt sich bei einer Gabe von CyA in einer Dosierung von 5 mg/kg/KG eine ausgeprägte Manifestation des chronischen Transplantatschadens nach ca. 24 Wochen, während bei einer Gabe von 1.5 mg/kg/Kg diese Zeichen bereits nach 12-16 Wochen zu beobachten sind. In einer Untersuchung in Kontrolltieren konnten wir zeigen, dass Tiere dieser Spender/-Empfängerkombination nach einem Zeitraum von 16 (3 Tagen post transplantationem in der Niereninsuffizenz verstarben, wenn auf eine Immunsuppression verzichtet wurde. Morphologische Untersuchungen zeigten hierbei die charakteristischen Kriterien einer akuten Abstossungsreaktion.

In unserem Modell der chronischen Transplantatabstossung zeigten sich innerhalb von 2 Wochen nach der Transplantation eine Deposition von Immunglobulinen, Komplement sowie Fibrin, insbesondere im Bereich des Gefässendothels. Hierbei blieb es unklar, ob es sich um eine spezifische Reaktion gegen das Endothel im Sinne einer vaskulären Abstossung oder um eine unspezifische Reaktion, bedingt durch eine veränderte Gefässpermeabilität handelte. Immunglobulin Titer waren zum Zeitpunkt der morphologischen Veränderungen, in unserem Modell nach 12-16 Wochen, nur noch gering ausgeprägt. Schon zu einem frühen Zeitpunkt zeigten sich in unserem Modell, wie auch in der humanen Situation, ausgeprägte Rundzellinfiltrate (41). Ebenso zeigten Isotransplantate zelluläre Infiltrate, wobei in Allotransplantaten zum Zeitpunkt des Auftretens morphologischer Veränderungen ausgeprägt aktivierte Monozyten/Makrophagen zu beobachten waren. IL-2+ Monozyten/Makrophagen sowie T-Zellen konnten in anderen Untersuchungen mit einer weiteren Zytokin Expression assoziiert werden (112). In unserem Modell erschien insbesondere die Expression von IL-6 mit einer Lokalisation im Bereich mesangialer Zellen von Bedeutung. Es ist bekannt, daß IL-6 mit der Entwicklung einer Fibrose sowie der Entwicklung einer mesangialen proliferativen Glomerulosklerose vergesellschaftet ist (113,114). Andere Untersucher berichteten von einer Assoziation zwischen einer glomerulären Monozyten/Makrophagen Infiltration und der Produktion pro-inflammatorischer Mediatoren (115,116). In in-vitro Versuchen konnte gezeigt werden, dass diese Vorgänge eine erhöhte Produktion von Mesangium-Zellen verursachen können (117). Weiterhin wurde in unserem Modell eine Expression von TNF(, IL-1 und IL-6 im Bereich des Gefässendothels, bzw. der Media

gefunden. Diese Zytokine könnten eine bedeutende Rolle bei der Entstehung einer Mediaproliferation haben (118).

Zusammenfassend zeigte unsere Untersuchung die Pathogenese der chronischen Transplantatabstossung in 3 Phasen: Nach einer initialen Phase mit Immunglobulin Ablagerungen im Bereich von Glomeruli und Gefässen konnte eine Rundzellinfiltration mit einer nachfolgenden Expression verschiedener Zytokine und Wachstumsfaktoren beobachtet werden. Nachfolgend waren die charakteristischen morphologischen Veränderungen zu beobachten.

3.2. Zellmigrations und -adhäsionsvorgänge in akuten und chronischen Abstossungsmodellen

Wie bereits in der vorangehenden Arbeit, zeigte diese Untersuchung die bedeutende Rolle infiltrierender Monozyten/Makrophagen sowie Lymphozyten in unserem Modell der chronischen Transplantatabstossung. Die Infiltration dieser Zellpopulationen erreichte ihren Gipfel kurz vor, bzw. zum Zeitpunkt ausgeprägter morphologischer Veränderungen. In einem in-vitro Assay wurden die Zelladhäsionsvorgänge in Allotransplantaten sowie unbehandelten Kontrolltieren verfolgt. Diese Untersuchungen konnten die immunhistologischen Quantitäten der zellulären Infiltrate zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten nicht bestätigen. Jedoch waren die adhärenten Zellen in Schnittpräparaten von Allotransplantaten signifikant im Vergleich zu denen in Kontrolltieren erhöht. Möglicherweise konnte unser in-vitro Assay nicht die Vorgänge in-vivo wiedergeben oder aber, Zelladhäsionen und -migrationen sind nicht in erster Linie für die hohen Zellzahlen im Transplantat verantwortlich. Es ist denkbar, daß lokale Zellproliferationen für die immunhistologisch nachgewiesen Quantitäten der zellulären Infiltrate verantwortlich sind. Diese Mechanismen konnten von Untersuchern in anderen Modellen gezeigt werden (119,120). Es ist bekannt, daß Adhäsionsmoleküle eine entscheidende Rolle bei der Infiltration von Zellen und deren Aktivierung spielen (121). In einem Maus Modell konnte nach Blockierung der Adhäsionsmoleküle ICAM-1 und LFA-1 eine Akzeptanz von Herztransplantaten erzielt werden (122). In unserem in-vitro Assay konnten wir durch monoklonale Antikörper gerichtet gegen ICAM-1, LFA-1 und L-Selectin eine signifikante Reduzierung der Adhäsion von Lymphozyten an Strukturen der chronisch abgestossenen Nierentransplantate erzielen. Diese Ergebnisse bestätigen die auch von anderen Untersuchern beschriebene Bedeutung von Adhäsionsmolekülen bei der Pathogenese der chronischen Transplantatabstossung.

Die Lymphozyten Migration wurde in einer weiteren in-vitro Studie an Nierentransplantaten im Rahmen der akuten Abstossungsreaktion verfolgt. In dieser Untersuchung wurde die Adhäsion von Lymphozyten eines transplantierten Tieres mit denen eines unbehandelten Kontrolltieres an Strukturen eines Nierentransplantatpräparates verglichen. Hierbei zeigte sich die Adhärenz unabhängig vom Aktivierungsgrad der Zellen. Schnittpräparate von Isotransplantaten oder unbehandelten Kontrollen zeigten nur eine geringe Zellbindung unabhängig davon, ob aktivierte oder unbehandelte Zellen untersucht wurden. Allotransplantate hingegen zeigten eine dynamische Adhäsion der Lymphozyten parallel zur Progression des akuten Abstossungsprozesses. Diese Beobachtung war unabhängig vom Aktivierungsgrad der Zellen. Über vergleichbare Ergebnisse wurde von anderen Untersuchern in einem Herztransplantationsmodell berichtet (123). Einhergehend mit einer zunehmenden Zelladhäsion war eine steigende Expression von Adhäsionsmolekülen mit einem Fortschreiten des Abstossungsprozesses in unserem Modell zu beobachten.

Andere Untersucher berichteten von einer zunehmenden Expression von ICAM-1 auf Endothelzellen nach unspezifischer Aktivierung (124-126) oder im Rahmen akuter Transplantatabstossungen (127-131). Monoklonale Antikörper gerichtet gegen die Adhäsionsmoleküle ICAM-1 und LFA-1 konnten die Adhäsion von Lymphozyten 'nur' um ca. 40 % reduzieren. Diese Beobachtung sprach für die Rolle verschiedener Adhäsionsmoleküle, die in diesen Prozess involviert sind. In unserer Untersuchung fanden wir eine initiale Expression von ICAM-1 auf Gefässendothelien. Mit Fortschreiten des Abstossungsprozesses war eine zunehmende Anfärbung im Bereich der Tubuli und auf infiltrierenden Zellen zu finden. Diese Dynamik deutet auf die Rolle von ICAM-1 bei einer initialen Adhärenz von Lymphozyten an Gefässen des Transplantates zur Einleitung des Abstossungsprozesses hin. Die Bedeutung von Adhäsionsmolekülen bei der Transplantatabstossung zeigte sich nach Einsatz von monoklonalen Antikörpern in Nagermodellen sowie in Untersuchungen an Primaten (122,132). Jedoch konnten die hohen Erwartungen nach den initialen experimentellen Ergebnissen in klinischen Untersuchungen nicht ganz erfüllt werden (133).

Die Ergebnisse unserer in-vitro Untersuchungen zeigten, daß die Migration von Lymphozyten im Rahmen akuter Abstossungen durch die Alloreaktivität des Transplantates und weniger durch den Aktivierungsgrad der Zellen bedingt sind. Adhäsionsmoleküle scheinen eine zentrale Rolle bei der Vermittlung der Migration zu spielen

3.3. Zusammenhänge zwischen Alloantigen-abhängigen und -unabhängigen Faktoren

Von besonderer Bedeutung bei der Untersuchung der chronischen Transplantatabstossung erscheint die Beantwortung der Frage, ob dieser Prozess in erster Linie durch Alloantigen-abhängige- oder unabhängige Faktoren beeinflusst wird.

Die Möglichkeit einer Reversibilität der chronischen Transplantatdysfunktion wurde experimentell durch Rücktransplantationen in ein Tier des Spenderstammes während fortgeschrittener Stadien des chronischen Schadens untersucht. Hierbei zeigte sich, dass die chronischen Veränderungen bis zu einem kritischen Zeitpunkt des Prozesses (in unserem Modell nach einem Zeitintervall < 12 Wochen nach der Transplantation) durch eine syngene Rücktransplantation komplett reversibel waren. Wurde die Rücktransplantation nach 12 Wochen oder zu einem späteren Zeitpunkt durchgeführt, waren die bereits fortgeschrittenen Veränderungen nicht mehr reversibel. Eine weitere Progression des Prozesses konnte in einem Tier des Spenderstammes beobachtet werden. Gleichzeitig zeigte sich jedoch auch in retransplantierten Iso- und Allotransplantaten, bei denen zunächst nach syngener Rücktransplantation eine komplette Reversibilität beobachtet wurde, eine persistierende zelluläre Infiltration mit der Expression zahlreicher Zytokine und Wachstumsfaktoren sowie eine gering fortschreitende Glomerulo- und Arteriosklerose nach einem langen Beobachtungszeitraum.

Zu erwähnen ist, dass in unserem experimentellen Modell der Einfluss einer Graft-versus-Host Reaktion nach syngener Rücktransplantation nicht überprüft wurde. Jedoch erscheint die potentielle Rolle sogenannter 'Passenger Leukozyten' nicht von wesentlicher Bedeutung in diesem Zusammenhang, da die Veränderungen in rücktransplantierten Allotransplantaten und Isotransplantaten vergleichbar waren.

Zu berücksichtigen ist weiterhin, dass die Rücktransplantation in ein unilateral nephrektomiertes Empfängertier durchgeführt wurde. Ziel unserer Untersuchungen war es, die morphologischen und immunhistologischen Veränderungen nach einer Rücktransplantation zu analysieren. Es ist möglich, dass den Rücktransplantaten durch diese Art des Vorgehens die 'Erholung' durch die Anwesenheit einer kontralateralen nativen Niere erleichtert wurde. In einer experimentellen Untersuchung in einem Rattenmodell konnte hingegen gezeigt werden, dass eine bilaterale Nephrektomie des Empfängertieres die Funktion von Isotransplantaten verbessern konnte (134). Bei gleichen Bedingungen für alle Versuchstiere zu jedem Zeitpunkt der Rücktransplantation kann jedoch nicht davon ausgegangen werden, dass das experimentelle Design die Reversibilität der chronischen Schädigung entscheidend beeinflusst hat.

Über Rücktransplantationen in ein Tier des ursprünglichen Spenderstammes wurde bereits in früheren Untersuchungen berichtet. Ziel dieser Studien war es, die Reversibilität akuter Abstossungsreaktionen durch eine syngene Rücktransplantation zu verfolgen. Diese Untersuchungen wurden in Hunde- und Rattenmodellen durchgeführt und zeigten eine komplette Reversibilität der akuten Abstossung, wenn bis zu einem bestimmten Zeitpunkt nach der initialen Transplantation rücktransplantiert wurde (135-137). Aussagekräftige Ergebnisse zur Reversibilität des chronischen Transplantatversagens lagen zum Zeitpunkt unserer Untersuchung nicht vor.

In weiteren Rücktransplantationsexperimenten wurde im Anschluss an unsere Untersuchungen der initiale Alloantigen-abhängige Einfluss auf die chronische Schädigung bestätigt.

In einem Aorten- und einem Herztransplantationsmodell wurde ein Fortschreiten der chronischen Transplantatdysfunktion beschrieben, wenn die Rücktransplantation nicht zu einem frühen Zeitpunkt durchgeführt wurde (138,139). Ein weiteres Fortschreiten der chronischen Transplantatdysfunktion nach Rücktransplantation konnte mit einer Antikörpergabe gerichtet gegen CD4 und CD8+ T-Zellen erfolgreich therapiert werden (140).

Zusammengefasst zeigten die eigenen Untersuchungen sowie die weiteren Studien in vergleichbaren Modellen, dass sowohl Alloantigen-abhängige, als auch -unabhängige Faktoren eine Rolle bei der Entstehung des chronischen Transplantatschadens spielen. In der frühen Phase scheinen reversible, immunologisch spezifische Prozesse eine Bedeutung zu haben, während zu einem späteren Zeitpunkt irreversible immunologisch unspezifische Faktoren an Einfluss zunehmen.

Auf der Grundlage dieser Ergebnisse wurde in weiteren Untersuchungen der Einfluss Alloantigen-abhängiger und -unabhängiger Faktoren betrachtet.

3.4. Alloantigen-unabhängige Einflüsse

3.4.1. Beobachtungen in Isotransplantaten

Der Einfluss Alloantigen-unabhängiger Faktoren wurde initial in unseren experimentellen Untersuchungen in Isotransplantaten untersucht.

Eine kurzfristige, gering dosierte Immunsuppression (CyA 1.5 mg/kg/KG über 10 Tage) trug in unserer experimentellen Studie nicht zu einer weiteren Schädigung bei. Während

die nephrotoxischen Effekte von CyA einschliesslich fibrotischer Langzeitveränderungen Einflüsse auf die Entwicklung einer arteriellen Hypertension, die Entstehung einer Transplantatvaskulopathie sowie einer Glomerulosklerose bekannt sind (84,141,142), wird diesen Mechanismen jedoch ein Dosis-abhängiger Effekt zugeschrieben (143,144).

Unsere Untersuchungen in Isotransplantaten zeigten die charakteristischen Kriterien der chronischen Transplantatdysfunktion in Abwesenheit einer immunologischen Disparität, wenngleich die Veränderungen zeitlich verzögert und in ihrer Ausprägung reduziert im Vergleich zu Allotransplantaten zu beobachten waren.

Neben funktionellen und strukturellen Veränderungen in unserem Modell liess sich ebenso eine Infiltration von Monozyten/Makrophagen und T-Zellen mit einem Aktivierungsmuster zahlreicher Zytokine und Wachstumsfaktoren finden, vergleichbar mit Vorgängen in Allotransplantaten zu einem früheren Zeitpunkt.

Weiterführende Untersuchungen in diesem Modell zeigten eine ausgeprägte Expression von ICAM-1 nach 24 Wochen und von MCP-1 (Monocyte Chemotactic Protein 1) nach einem Beobachtungszeitraum von einem Jahr (145). Die zu diesem Zeitpunkt auftretende ausgeprägte Infiltration von Monozyten/Makrophagen sowie die Expression von IL-6 deutet auf eine entscheidende Rolle dieser Zellen als Vermittler der späten Schäden in Isotransplantaten hin.

Auch in der klinischen Situation wurde über eine eingeschränkte Langzeitfunktion bei Isotransplantaten berichtet. Wurden Nierentransplantationen zwischen eineiigen Zwillingen durchgeführt, kam es bei 40% nach einem Zeitraum von 10 Jahren zum Transplantatversagen. Nach einem Zeitraum von 2 Monaten bis 16 Jahren zeigten diese Transplantate eine ansteigende Proteinurie mit einer zunehmenden Funktionseinschränkung. Morphologisch zeigte sich eine frühe zelluläre Infiltration, Immunglobulin-Ablagerungen im Bereich der Glomeruli sowie spät auftretende glomerulo- und arteriosklerotische Veränderungen (40-42).

Unsere experimentellen Ergebnisse zeigen Parallelen zu den klinischen Berichten und unterstützen die Hypothese des Einflusses Allantigen-unabhängiger Faktoren.

Verantwortliche Risikofaktoren für die Beobachtungen in Isotransplantaten wurden in weiteren Untersuchungen isoliert oder im Zusammenhang mit Alloantigen-abhängigen Einflüssen untersucht.

3.4.2. Einfluss des Ischämie/Reperfusionsschadens

In den eigenen Untersuchungen zeigte eine ischämische Schädigung von Nieren unbehandelter Kontrolltiere Langzeitveränderungen, die denen in Isotransplantaten entsprachen. Der Einfluss des Ischämie-/Reperfusionsschadens zeigte sich insbesondere dann ausgeprägt, wenn gleichzeitig die kontralaterale Niere entfernt wurde, d.h. die Masse des funktionierenden Nierenparenchyms reduziert wurde. Der Ischämie-/Reperfusionsschaden per se sowie die Dauer der ischämischen Schädigung zeigten in zahlreichen experimentellen und klinischen Untersuchungen einen Einfluss sowohl auf den Verlauf der frühen wie der späten Transplantatfunktion (43,49,50,53,80,81,145).

In einer klinischen Untersuchungsserie zeigte sich eine 1-Jahresfunktionsrate von 40% bei einer warmen Ischämie von > 50 min. Bei einer warmen Ischämiezeit von < 50 min reduzierte sich die 1-Jahresfunktionsrate um je 1%, wenn die warme Ischämiezeit um je 1

Minute verlängert wurde. Gleichzeitig zeigte sich eine Korrelation zwischen ischämischer Schädigung und dem Auftreten akuter reversibler Abstossungsreaktionen (146).

In experimentellen Modellen konnte eine signifikante Reduzierung glomerulo- und arteriosklerotischer Veränderungen durch eine Verkürzung der kalten Ischämiezeit gezeigt werden (147).

Zusammenhänge zwischen Ischämie, initialer Nicht- oder verzögerter Funktion deuten darüber hinaus eine Korrelation zwischen Alloantigen-abhängigen und -unabhängigen Faktoren an (97-99).

In einer eigenen aktuellen Untersuchung konnten wir zeigen, dass insbesondere vorgeschädigte Organe, wie die von marginalen Spendern, eine erhöhte Sensibilität für eine ischämische Schädigung aufweisen (148).

Pathophysiologisch kommt es in Folge des Ischämie-/Reperfusionsschadens zu einer verstärkten Expression von Adhäsionsmolekülen sowie pro-inflammatorischen Zytokinen mit der Folge einer Infiltration von Granulozyten, Monozyten/Makrophagen sowie T-Lymphozyten. An diese Vorgänge schliessen sich die Generierung zahlreicher vasoaktiver und toxischer Metabolite an (75,77,78,149).

Insbesondere den Wachstumsfaktoren PDGF und TGF-β scheint eine Rolle als Vermittler durch ihre mitogene bzw. aktivierende Wirkung auf Proteine der extrazellulären Matrix zu zukommen (150).

In unserer eigenen Studie sowie in Untersuchungen anderer (151) zeigte sich eine erhöhte MHC II Expression als Folge der ischämischen Schädigung. Möglicherweise kommt es durch diese Vorgänge zu einer Steigerung der Immunogenität des Transplantates.

Daneben zeigte die erhöhte Expression von ICAM-1, 52 Wochen nach initialer Schädigung, in einseitig nephrektomierten unbehandelten Kontrolltieren, den Einfluss von Ischämie und reduzierter Nierenmasse. In weiterführenden Untersuchungen in diesem Modell zeigte sich eine frühe Expression von ICAM-1, Endothelin und MHC Klasse II Molekülen. Zu einem späten Zeitpunkt der Untersuchung (24 Monate) zeigten sich morphologische Veränderungen einer chronischen Transplantat-dysfunktion sowie eine erhöhte Infiltration von Monozyten/ Makrophagen einschliesslich assoziierter Zytokine wie IL-1, TNF-(TGF-(, iINOS sowie MCP-1. Diese Veränderungen waren nicht nach einer ischämischen Schädigung zu beobachten, wenn gleichzeitig eine kontralaterale native Niere verblieb (77).

Über verschiedene Therapieoptionen der Folgen des Ischämieschadens wurde berichtet.

In einer Studie unter Verwendung des von uns untersuchten experimentellen Modells konnte nach einer Therapie mit Bioflavonoiden (z.B. Cumarin) eine verbesserte Funktionsrate bei reduzierten strukturellen und zellulären Schäden beobachtet werden (152). Antikörper gegen ICAM-1 konnten den Ischämieschaden in nicht transplantierten Nieren reduzieren (153). In eigenen Untersuchungen (siehe dort) konnte die Funktion von Auto- und Isotransplantaten nach Gabe eines Antisense-Oligonukleotides, gerichtet gegen ICAM-1, verbessert werden (154,155).

Möglicherweise lässt sich durch eine Reduzierung des Ischämie-/Reperfusionsschadens eine verbesserte Langzeitfunktion nach Organtransplantation erzielen. In diesem

Zusammenhang bietet sich als mögliches Therapiekonzept auch eine Spendervorbehandlung an. Eigene aktuelle Untersuchungen überprüfen dieses Konzept.

3.4.3. Einfluss des Verhältnisses Transplantatmasse/Körpergewicht

Neben dem Ischämie-/Reperfusionsschaden scheint vor allen Dingen die Masse des funktionierenden Nierenparenchyms eine Rolle bei der Betrachtung der Langzeitfunktion zu spielen.

Der Einfluss der Anzahl funktionierender Nephrone wurde von uns in zwei experimentellen Modellen verfolgt. In nativen Tieren wurden die Folgen einer ischämischen Schädigung in An- und Abwesenheit einer kontralateralen nativen Niere untersucht. Die Folgen auf die chronische Transplantatdysfunktion wurden in einer weiteren Untersuchung in Allotransplantaten bi- und unilateral nephrektomierter Empfängertiere verfolgt.

In diesen Untersuchungen zeigte sich eine signifikant verbesserte Transplantatfunktion bei reduzierten morphologischen Veränderungen, wenn das Allotransplantat durch eine kontralaterale Niere 'unterstützt' wurde.

Untersuchungen zum Einfluss der Nierenmasse wurden in einem weiteren Modell fortgeführt. In dieser Untersuchungsreihe wurden Parenchym-reduzierte Allo- oder Isotransplantate sowie unbehandelte Kontrollen untersucht. Hierbei zeigte sich eine reduzierte Funktionseinschränkung in Relation zur Grösse des Transplantates und zwar unabhängig davon, ob es sich um ein Allo- oder Isotransplantat oder eine native Kontrollniere handelte. Ebenso zeigten sich morphologische Veränderungen und zelluläre Infiltrate abhängig von der Anzahl funktionierender Nephrone.

Umgekehrt konnte bei einer Erhöhung der transplantierten Nierenmasse eine Normalisierung von Funktion und Morphologie bei einer reduzierten Anzahl infiltrierender Monozyten/Makrophagen sowie T-Zellen und deren Zellprodukte beobachtet werden (76).

Pathophysiologisch von Bedeutung erscheint die Hyperfiltrationstheorie zur Erklärung des Einflusses der Nierenmasse auf die Transplantatfunktion (156). Nach dieser Theorie führt eine 'Arbeitsüberlastung' als Folge einer reduzierten Nephronenzahl zu einer Adaptation im Sinne einer eingeschränkten Funktion und der Folge einer fokalen und segmentalen Glomerulosklerose.

Vor diesem Hintergrund wurde ebenso das Auftreten charakteristischer Veränderungen des chronischen Transplantatversagens bei Erkrankungen, die mit einer Reduktion der Organmasse einhergehen, erklärt. Spenderalter, -geschlecht und -rasse stellen weitere Risikofaktoren für einen reduzierten Langzeitverlauf dar (56,157). Als Konsequenz wurde neben einer möglichst hohen immunologischen Übereinstimmung ein 'physiologisches Matching' gefordert. Dieser Anspruch erscheint bei Schwankungen zwischen 300.000 und 1.200.000 funktionierender Nephrone bei 'normalen Spendern' (158) sowie weiteren potentiellen additiven Schäden durch Ischämie und Abstossungsreaktionen nachvollziehbar. Bei einem aktuell ausgeprägten Organmangel ist diese Forderung jedoch nur begrenzt zu erfüllen.

Der Einfluss der transplantierten Organmasse scheint auch bei anderen Organen eine Rolle zu spielen. Wenngleich die Leber auf Grund ihrer hochgradigen Regenerationsfähigkeit eine ausgeprägte Toleranz bei der Betrachtung der Ratio Körper-/Transplantatgewicht besitzt, zeigt sich auch hier bei einem extremen Missverhältnis

(Transplantat < 1% des Empfängergewichtes) eine reduzierte Transplantatfunktion, möglicherweise als Folge eines gesteigerten Parenchym-schadens und einer reduzierten metabolischen Kapazität (159,160).

Die Langzeitschäden können durch eine arterielle Hypertension weiter gesteigert werden. Wurden die Folgen einer reduzierten Nierenmasse untersucht, so konnte bei gleichzeitig vorhandener arterieller Hypertension eine Steigerung der morphologischen Schäden beobachtet werden (161,162).

Problematisch erscheint bei der Betrachtung der Einflussgrösse arterielle Hypertonie allerdings, ob diese als Folge der chronischen Schädigung anzusehen ist oder selbst zu den chronischen Veränderungen beiträgt. Klinisch wurde eine arterielle Hypertonie, die bereits vor der Transplantation besteht oder nach der Transplantation wiederauftritt als Risikofaktor nachgewiesen (59). Experimentell konnte eine Beschleunigung der chronischen Transplantatdysfunktion nach Nierentransplantation in ein spontan hypertensives Empfängertier gezeigt werden (163).

In jüngster Zeit kommt es als Folge des Organmangels zu einer vermehrten Transplantation sogenannter 'marginaler Spenderorgane'. Wenn gleich dieser Terminus nicht ausreichend definiert ist, sind es vor allen Dingen die Risikofaktoren Spenderalter, Vorerkrankungen und die Ischämiedauer, die in diesem Zusammenhang eine Rolle spielen und zu einer reduzierten Transplantatfunkion beitragen (43-46,49,50,53,80-82). Spendervorbehandlungen, eine Erhöhung der Nierenmasse (Transplantation von 2 Nieren) oder eine Transplantation in ältere Empfänger könnten in diesem Zusammenhang neue Therapiekonzepte darstellen.

Interessant erscheint, dass nach einer klinischen Studie Transplantate älterer Spender in älteren Empfängern eine bessere Funktion zeigten. Nach einem Beobachtungszeitraum von 3 Jahren zeigten ältere Empfänger nach der Transplantation einer Niere eines älteren Spenders (> 50 Jahre) eine bessere Funktion im Vergleich zu jüngeren Empfängern, die ein Organ aus dem gleichen Donor-Pool erhielten (43). Eine Erklärung für diese Beobachtung gibt es bisher nicht. Möglicherweise ist die immunologische Reaktionsbereitschaft des älteren Empfängers reduziert. So scheinen ältere Empfänger weniger häufig ein Transplantat als Folge einer irreversiblen Abstossung zu verlieren (55). Diese Altersgruppe zeigte ebenso eine höhere Sterberate mit funktionierendem Transplantat (164).

Die Langzeitfunktion von marginalen Spenderorganen ist Inhalt eigener aktueller Untersuchungen, die nicht Teil dieser Habilitationsschrift sind.

3.4.4. Alloantigen-unabhängige Schädigungen nach der Transplantation

Während der Einfluss der funktionierenden Transplantatmasse sowie des Ischämie-/ Reperfusionsschadens Alloantigen-unabhängige Risikofaktoren darstellen, die bereits vor oder zum Zeitpunkt der Organentnahme eine Rolle spielen, repräsentieren Infektionen Alloantigen-unabhängige Einflüsse, die nach der Transplantation zu einer möglichen Akzeleration des chronischen Transplantatschadens führen können. Diese Konstellation wurde von uns experimentell in dem zuvor verwandten, etablierten Nierentransplantations-modell in der Ratte simuliert, in dem den Versuchstieren 8 Wochen nach der Transplantation eine nicht lethale Applikation des Endotoxins Lipopolysaccharid (LPS) verabreicht wurde. Tatsächlich führte diese unspezifische Zellaktivierung zu einer

beschleunigten chronischen Abstossung. Die morphologischen, funktionellen sowie zellulären Analysen in Tieren nach LPS Applikation waren 16 Wochen nach der Transplantation mit denen in nicht weiter geschädigten Tieren nach einem Zeitraum von 24 Wochen vergleichbar.

Es ist bekannt, dass LPS die Aktivierung einer Reihe von Zytokinen wie IL-1ß, MCP-1 und TNF-(bewirken kann. Gleichzeitig kann in Folge einer LPS Applikation eine verstärkte Expression von MHC Klasse I und II Molekülen beobachtet werden. Weiterhin ist eine Aktivierung von Monozyten/Makrophagen sowie Endothelzellen bekannt (165). In unserer eigenen Untersuchung sahen wir diese Vorgänge bestätigt. Diese Mechanismen sind möglicherweise für die beobachtete Akzeleration der chronischen Transplantatabstossung nach LPS Gabe verantwortlich. Gleichzeitig zeigte diese Arbeit, dass Alloantigen-unabhängige Schädigungen auch nach der Transplantation zu den chronischen Schäden beitragen können. In aktuellen Untersuchungen, die nicht Teil der hier vorgestellten Arbeiten sind, wurde der Einfluss spezifischer und unspezifischer T-Zellaktivierungen nach der Organtransplantation, simuliert durch Hauttransplantationen oder ischämische Schädigungen des Transplantates, weiter verfolgt. Vorläufige Ergebnisse dieser Arbeiten zeigen eine signifikante Steigerung des chronischen Transplantatversagens durch eine donor-spezifische T-Zellaktivierung (166).

3.5. Alloantigen-abhängige Einflüsse

3.5.1. Die Rolle akuter Abstossungsreaktionen

Alloantigen-unabhängige Faktoren spielen zweifelsfrei eine bedeutende Rolle bei der Entstehung der chronischen Transplantdysfunktion.

Die charakteristischen Zeichen des chronischen Transplantatschadens sind bei Allotransplantaten im Vergleich zu Isotransplantaten zu einem früheren Zeitpunkt und in stärkerer Ausprägung zu beobachten.

Zahlreiche klinische Untersuchungen zeigen den Einfluss der HLA-Kompatibilität auf die Langzeitfunktion nach Nierentransplantation (52,95,167,168). Jedoch könnte in diesem Zusammenhang auch ein optimiertes perioperatives Management und eine Reduzierung der Ischämiezeit eine Rolle spielen (82). In einer anderen Untersuchung wurde jedoch auch der Einfluss der HLA-Inkompatibilität in der Situation der Verwandten-Nierentransplantation gezeigt (169).

Weniger klar ist der Einfluss der HLA-Inkompatibilität für Herz- oder Lebertransplantationen.

Eine prospektive HLA-Typisierung ist im Rahmen der Herztransplantation wegen der Limitierung der Ischämiezeit aktuell nicht möglich. Retrospektive Analysen zeigten jedoch einen Einfluss der HLA-Inkompatibilität auf die Entwicklung akuter und chronischer Abstossungsreaktionen. So korrelierte eine HLA-B sowie HLA-DR Inkompatibilität mit dem Auftreten akuter und chronischer Abstossungen. Ebenso korrelierte der Nachweis von anti-HLA Antikörpern im Serum von Herz- und Nierentransplantatempfängern mit einer erhöhten Inzidenz chronischer Abstossungen (38,170-174).

Während Patienten mit einer Transplantat-Arteriosklerose eine ausgeprägte Expression HLA-DR+ Endothelzellen aufwiesen, die in-vitro die Proliferation von T-Lymphozyten und

deren IL-2 Sekretion stimulierte, wiesen die Endothelzellen bei Patienten mit konventioneller Arteriosklerose nur eine geringe Expression HLA-DR+ Zellen auf (175).

Andere Untersucher konnten jedoch keine verbesserte Langzeitfunktion nach Herztransplantationen in Abhängigkeit von der HLA-Kompatibilität beobachten (176).

Ebenso konnten bisher keine Nachweise für einen Einfluss der HLA-Kompatibilität auf die Langzeitfunktion nach Lebertransplantation erbracht werden (177-179).

In der Situation der Nierentransplantation zeigten zahlreiche klinische Studien eine Korrelation akuter Abstossungsreaktionen mit dem Auftreten eines chronischen Transplantatversagens (83,180-182). In diesem Zusammenhang scheint jedoch der spezifischen histologischen Veränderung, dem Zeitpunkt, der Ausprägung und dem Erfolg der Therapie eine besondere Rolle bei der Bewertung dieser Zusammenhänge zu zukommen.

Erstaunlicherweise zeigte sich bei Herztransplantaten in den meisten Berichten keine Korrelation akuter Abstossungsreaktionen mit einer erhöhten Inzidenz einer Transplantations-assoziierten Arteriosklerose (15,16,183-185).

Die Zusammenhänge zwischen akuten Abstossungen und chronischen Transplantatschäden wurde von uns in einem experimentellen Nierentransplantationsmodell in der Ratte untersucht.

In dieser Studie wurden Allotransplantate in einer Spender-/Empfängerkombination mit ausgeprägter Histoinkompatibilität zu unterschiedlichen Zeitpunkten des akuten Abstossungsprozesses in ein Tier des ursprünglichen Spenderstammes rücktransplantiert. Rücktransplantierte Isotransplantate dienten hierbei als Kontrollen zur Überprüfung des Einflusses Alloantigen-unabhängiger Schäden. Ziel dieser Untersuchung war es, eine komplette Reversibilität der akuten Abstossungsreaktion zu erreichen und anschliessend eine Langzeitbeobachtung zur Überprüfung der Entwicklung eines chronischen Transplantatversagens durchzuführen. Hierbei wurde durch die syngenen Rücktransplantationen eine 'optimale Therapie' der akuten Abstossungsreaktion simuliert.

Eine Rücktransplantation zu einem frühen Zeitpunkt (in unserem Modell nach 3 Tagen), führte bei allen Tieren zu einer kompletten Reversibilität der akuten Abstossungsreaktion. Nach einem Beobachtungszeitraum von 6 Monaten waren die funktionellen und morphologischen Schäden nicht von rücktransplantierten Isotransplantaten zu unterscheiden und zeigten bei einer geringen Glomeruloskleroserate (ca. 15%) keine Charakteristika eines chronischen Transplantatschadens. Vergleichbare Ergebnisse wurden bei ca. der Hälfte der Allotransplantate, die nach 4 Tagen rücktransplantiert wurden, beobachtet. Die übrigen Tiere, die zu diesem oder einem späteren Zeitpunkt rücktransplantiert wurden, zeigten entweder keine Funktionsaufnahme des Nierentransplantates nach Rücktransplantation oder verstarben nach ca. 2-3 Wochen mit ausgeprägten Zeichen einer akuten Abstossungsreaktion.

Diese Ergebnisse zeigten, dass frühe akute Abstossungsreaktionen nach einer syngenen Rücktransplantation komplett reversibel waren und nach dieser 'optimalen Therapie' nicht zu den chronischen Langzeitschäden beitrugen.

Die Ergebnisse bestätigten klinische Beobachtungen, die den Einfluss von akuten Abstossungsreaktionen auf chronische Schäden mit dem Erfolg der Therapie, gemessen durch die Verbesserung der Nierenfunktionsparameter, assoziierten (100).

Im Gegensatz zur klinischen Situation wurde weder zum Zeitpunkt der Allotransplantation, noch zum Zeitpunkt der Rücktransplantation eine Immunsuppression verwandt. Das Ziel unseres Modells war vielmehr die bereits erwähnte 'optimale Therapie' der akuten Abstossungsreaktion durch Rückführung in ein syngenes Wirtstier.

Wie bereits in unserem früheren Rücktransplantationsversuch, wurde auch in diesem Modell nicht die Auswirkung einer Graft-versus-Host Reaktion überprüft. Gleichzeitig wurden jedoch rücktransplantierte Isotransplantate als Kontrollen mitgeführt. Die Beobachtungen in diesen Gruppen unterschieden sich nicht von denen in 'erfolgreich' rücktransplantierten Allotransplantaten.

In früheren Rücktransplantationsexperimenten anderer Autoren hatte die Beantwortung der Frage nach einer Reversibilität akuter Abstossungsreaktionen Priorität vor einer Langzeitbeobachtung (135-137). Eines dieser frühen Experimente beschreibt das Auftreten einer Arteriosklerose nach syngener Rücktransplantation in einem Hundemodell (136). Die Frage nach Zusammenhängen zwischen akuten Abstossungsreaktionen und chronischen Transplantatschäden wurde in weiteren aktuellen experimentellen Studien anderer Untersucher verfolgt.

In einem Aortentransplantationsmodell wurde eine komplette Reversibilität akuter Abstossungsreaktionen bei Rücktransplantationen zu einem frühen, jedoch nicht zu einem späten Zeitpunkt beschrieben (186). In einem Herztransplantionsmodell waren nur sehr frühe akute Abstossungsreaktionen nach Rücktransplantation reversibel, während bei Rücktransplantationen zu einem späteren Zeitpunkt über das Auftreten einer Transplantatvaskulopathie berichtet wurde (139).

Die Unterschiede der Beobachtungen in anderen Modellen, im Vergleich zu den eigenen Untersuchungen, lassen sich möglicherweise durch die Verwendung differenter Rattenstämme oder die verabreichte Immunsuppression in diesen Systemen erklären.

Ebenso könnten organspezifische Unterschiede eine Erklärung für die unterschiedlichen experimentellen und klinischen Berichte bei der Betrachtung der Zusammenhänge zwischen akuten Abstossungsreaktionen und chronischen Transplantatschäden liefern.

Insgesamt erscheint eine frühzeitige und erfolgreiche Therapie akuter Abstossungsreaktionen von Bedeutung zur Verbesserung der Langzeitfunktion.

Die Immunantwort nach Reversibilität akuter Abstossungsreaktionen wurde in einem weiteren Untersuchungsschritt von uns untersucht.

Hierbei wurde die Gen-Expression in Allotransplantaten, zum Zeitpunkt der akuten Abstossung, mit der nach syngener Rücktransplantation und kompletter Reversibilität der akuten Abstossungsreaktion, durch RT-PCR Analysen verglichen.

Während ein zunehmender Anstieg der cDNA CD3+ T-Zellen in Allotransplantaten mit einer Progression der akuten Abstossungsreaktion assoziiert war, zeigte sich nach Rücktransplantation nur ein geringer Nachweis der cDNA Expression für CD3+ T-Zellen.

Gleichzeitig kam es zu einem Anstieg der Expression von IL-1, IFN-γ und IL-2R mit einem Fortschreiten der akuten Abstossung, während die cDNA Expression für diese TH1 assoziierten Zytokine nach erfolgreicher Rücktransplantation gering war. Ein umgekehrter Verlauf zeigte sich für das TH2 assoziierte Zytokin IL-4. Hier war ein cDNA Abfall parallel zu einer Progression der akuten Abstossungsreaktion nachweisbar, während

rücktransplantierte Allotransplantate nach einem Beobachtunsgzeitraum von 32 Wochen einen ausgeprägten cDNA Anstieg für IL-4 zeigten.

Der erfolgreiche Langzeitverlauf nach Rücktransplantation und Reversibilität der akuten Abstossungsreaktion lässt sich möglicherweise durch eine reduzierte Immunaktivierung erklären.

Obwohl Allotransplantate bereits zu einem frühen Zeitpunkt einen ausgeprägten Nachweis zellulärer Infiltrate und Aktivierungsmarker zeigten, waren diese Vorgänge nicht ausreichend, um den Abstossungsprozess nach syngener Rücktransplantation aufrecht zu erhalten. Für diesen Prozess scheint eine weitere Aktivierung durch den Wirt, zumindest zu einem frühen Zeitpunkt, notwendig.

Unklar bleibt das Schicksal der aktivierten Zellen nach Rücktransplantation. Eine Migration dieser Zellen aus dem Transplantat oder der Verlust durch Apoptose sind mögliche Erklärungen. Während ein drastischer Rückgang infiltrierender T-Zellen in rücktransplantierten Allotransplantaten beobachtet wurde, zeigten rücktransplantierte Isotransplantate eine gering ansteigende cDNA Expression für CD3+ T-Zellen. Diese Vorgänge lassen eine Aktivations-induzierte Apoptose als wahrscheinlichere Erklärung zu.

Parallel zu den beobachteten Veränderungen der Zellinfiltration zeigte sich eine Immundeviation im Sinne eines TH1/TH2 'Shiftes' bei der Betrachtung der untersuchten Zytokine. Dieses Phänomen wird in der Literatur kontrovers diskutiert.

Nach akuten Abstossungsreaktionen, die mit einer spontanen Funktionsverbesserung einhergingen, liess sich in Lebertransplantaten eine hohe IL-4, jedoch keine IL-2 Expression nachweisen (187). Gleichzeitig zeigte eine erfolgreiche Therapie akuter Abstossungs-reaktionen nach OKT3 Gabe in Nierentransplantaten einen TH1/TH2 Shift (188,189). Es ist bekannt, dass TH2 assoziierte T-Zellen eine höhere Resistenz gegenüber einer Aktivations-assoziierten Apoptose haben. So ist es auch vorstellbar, dass TH2 assoziierte T-Zellen nach einer Rücktransplantation einen Überlebensvorteil haben. Andere Untersucher lehnen jedoch eine direkte Assoziation von TH1 oder TH2 assoziierten Zytokinen mit der Entwicklung einer Toleranz oder Abstossung ab (190). Während Pankreasinselzellen mit einer konstitutiven Expression von IL-10, einem TH2 assoziierten Zytokin, akut abgestossen wurden, zeigte sich ebenso eine akute Abstossung in IL-2, bzw. IFN-γ knock-out Mäusen (191,192).

Wenige Berichte liegen bisher über den Einfluss TH1 oder TH2 assoziierter Zytokine auf die Entwicklung eines chronischen Transplantatschadens vor. Während eine frühe IFN-γ Produktion einen Beitrag zu der Entwicklung einer Transplantatvaskulopathie liefern soll (193), gibt es Berichte, die eine hohe IL-4 Expression mit einem chronischen Transplantatschaden assoziieren (194). In unserem Modell war ein hoher IL-4 Nachweis mit dem Ausbleiben einer chronischen Schädigung verbunden.

Zusammengefasst zeigen sich jedoch Evidenzen, die dafür sprechen, dass ein kontinuierlicher TH1/TH2 'Shift' einen Beitrag zu einem günstigen Langzeitverlauf liefern kann.

3.6. Therapeutische Interventionen

3.6.1. Prävention der chronischen Transplantatabstossung durch Toleranz-Induktion

Einen weiteren Ansatz zur Untersuchung der Mechanismen sowie der Therapie des chronischen Transplantschadens bieten Toleranzmodelle. Darüberhinaus ist in diesen Modellen eine Unterscheidung des Einflusses Alloantigen-abhängiger und -unabhängiger Faktoren möglich.

Durch eine Therapie mit einer einmaligen Gabe von CTLA4Ig, einem Fusionsprotein, das die CD28-B7 vermittelte Ko-Stimulation Antigen-präsentierender Zellen blockiert, konnte in einem Rattenmodell die Ausbildung einer chronischen Transplantatdysfunktion verhindert werden (105). Diese Ergebnisse zeigen die bedeutende Rolle der Antigenerkennung zur Entwicklung der chronischen Schäden. Im gleichen Modell konnte durch eine späte Gabe von CTLA4Ig ein weiteres Fortschreiten des chronischen Transplantatschadens verhindert werden (107). Über vergleichbare Ergebnisse nach experimentellen Herztransplantationen im Rattenmodell wurde berichtet (106). Nach Induktion einer donor-spezifischen Toleranz durch einen hämatopoetischen Chimerismus zeigten Herztransplantate in einem Rattenmodell weder Anzeichen einer akuten Abstossungsreaktion noch eines chronischen Transplantatschadens (195). Eine intrathymale Injektion von Knochenmarkszellen im F-344 nach LEW Modell konnte eine uneingeschränkte Langzeitfunktion von Nierentransplantaten bei einem Chimerismus < 0.1% bewirken (196). Eine anti-CD4 Therapie mit einem nicht depletierenden Antikörper konnte akute Abstossungsreaktionen verhindern, während ein chronischer Transplantschaden reduziert werden konnte (197).

Diese Untersuchungen zeigen einmal mehr die Rolle Alloantigen-abhängiger Prozesse bei der Entstehung der chronischen Schäden. Unklar bleibt hierbei, ob diese Faktoren nur in der initialen Phase eine Rolle spielen.

In einer eigenen Untersuchung konnten wir in einem Rattenmodell, unter Verwendung der Spender-/Empfängerkombination von F-344 und LEW Tieren, durch eine erste Nierentransplantation eine Langzeitakzeptanz für ein zweites donor-spezifisches Nierentransplantat erzielen. Dieser Vorgang war unabhängig von einer Immunsuppression während der Zweittransplantation und konnte nach einem zeitlichen Intervall von 2 Wochen nach der Ersttransplantation beobachtet werden. Während die ersten Nierentransplantate nach einem Zeitraum von 12 Wochen die charakteristischen Zeichen einer chronischen Transplantatdysfunktion zeigten, war in Nierenzweittransplantaten nur ein geringer Anstieg der Proteinurie zu beobachten. Morphologisch zeigte sich nur eine geringgradige Glomerulosklerose (< 10%) bei reduzierten Zellinfiltraten und sonst unauffälliger Histologie. Weitere Untersuchungen in diesem Modell zeigten die Entwicklung einer durch das initiale Nierentransplantat induzierten donor-spezifischen, übertragbaren Toleranz.

Diese Beobachtungen stehen im Gegensatz zu den Ergebnisse in Modellen einer gesteigerten Abstossung nach vorangehender Sensibilisierung. Jedoch ist bei diesen Modellen zu berücksichtigen, dass die Organtransplantation zu einem Zeitpunkt einer ausgeprägten humoralen Antwort durchgeführt wird (198). In anderen Untersuchungen konnte durch ein sogenanntes Enhancement, d.h. durch einen der Transplantation vorangehenden donor-spezifischen Serum-Transfer, eine verlängerte Funktion des

Allotransplantates erzielt werden (199,200,201). Zahlreiche klinische und experimentelle Untersuchungen beschreiben die günstigen Effekte einer der Transplantation vorausgehenden donor-spezifischen oder Fremdbluttransfusion, wenn gleich diese Einflüsse nach wie vor kontrovers diskutiert werden (202-204).

Nach einer initialen Lebertransplantation zeigten nachfolgende donor-spezifische Aortentransplantate eine selbst-limitierende zelluläre Infiltration bei Ausbleiben einer Arteriosklerose (205). Die Eigenschaften eines Lebertransplantates bezüglich seiner reduzierten Immunogenität, bzw. immunsupprimierenden Eigenschaft sind aus klinischen und experimentellen Untersuchungen bekannt, wenn auch nicht komplett verstanden.

In einem weiteren experimentellen Modell konnte nach einer initialen Herztransplantation ebenso eine reduzierte Schädigung in Aortentransplantaten beobachtet werden (206). Gleichzeitig wurde eine reduzierte Anzahl apoptotischer Zellen bei reduzierter Fas/FasL Expression gefunden.

Diese Untersuchungen zeigen gemeinsam mit unseren eigenen Arbeiten, dass Alloantigen-spezifische Faktoren eine bedeutende Rolle für die Entstehung von Langzeitschäden spielen.

Die Mechanismen der Toleranz-Induktion in unserem Modell sind bisher noch unklar. Erste noch unveröffentlichte Ergebnisse deuten auf eine Rolle regulatorischer T-Zellen hin. Alternative Erklärungen einer Allotransplant-induzierten Toleranz favorisieren einen Mechanismus einer T-Zelldeletion/-erschöpfung (207).

Untersuchungen der Mechanismen einer Allotransplantat-induzierten Toleranz werden in aktuellen experimentellen Projekten fortgeführt.

3.6.2. Therapie akuter und chronischer Abstossungsreaktion / Therapie des Ischämie-/ Reperfusionsschadens

Die hohe Inzidenz des chronischen Transplantatversagens trotz Therapie der aktuell zur Verfügung stehenden Immunsuppressiva zeigt, dass zur Zeit keine erfolgreiche Prophylaxe oder Behandlungsmöglichkeit zur Verfügung steht. Aktuell erscheint ein Konzept sinnvoll, welches die Auswirkungen der bisher bekannten Risikofaktoren reduzieren kann. Dieses Konzept schließt eine Reduzierung der Ischämiezeit sowie ein physiologisches Matching zur Verminderung der Schäden als Folge einer Arbeitsüberlastung des zur Verfügung stehenden Transplantatparenchyms ein. Experimentelle Toleranzprotokolle stellen alternative, wenn gleich zum jetzigen Zeitpunkt nicht klinisch applizierbare Optionen dar.

In Kooperation mit anderen Arbeitsgruppen wurden Möglichkeiten zur Therapie des chronischen Transplantatversagens, akuter Abstossungsreaktionen sowie der Schäden als Folge von Ischämie-/Reperfusion untersucht.

In dem von uns verwandten chronischen Abstossungsmodell in der Ratte wurde eine Therapie mit Mycophenolat Mofetil (RS 61443/CellCept) zur Prophylaxe sowie zur Therapie des chronischen Transplantatschadens durchgeführt. Beide Therapiegruppen zeigten eine normale Funktion des Transplantates bei nur geringen morphologischen Schäden. Als immunsuppressiver Wirkungsmechanismus von Mycophenolat Mofetil ist die reversible Blockade der de-novo DNA Synthese beschrieben. Weiterhin erscheint eine Reduzierung der Expression von Adhäsionsmolekülen sowie der Antikörperproduktion

insbesondere für die Vorgänge des chronischen Transplantatversagens von Bedeutung (208-211). Für Mycophenolat Mofetil wurde sowohl die Beeinflusung Alloantigen-abhängiger, als auch Alloantigen-unabhängiger Faktoren beschrieben. So konnte bei einer bereits vor der Transplantation beginnenden Therapie des Empfängers eine Reduzierung arteriosklerotischer Veränderungen sowohl als Folge des Abstossungsprozesses, als auch einer mechanischen Schädigung beobachtet werden. Bei der Analyse der Mechanismen der chronischen Transplantatdysfunktion in unserem Modell (siehe dort) wurde bereits auf die bedeutende Rolle der Antikörper und Komplement vermittelten Schäden der chronischen Transplantatabstossung hingewiesen. Nach einer Therapie mit Mycophenolat Mofetil zeigte sich eine signifikant reduzierte Deposition von Immunglobulinen und Komplement in unserem Modell.

Klinische Studien zeigen sowohl nach einem, aber auch nach drei Jahren, eine signifikant reduzierte Anzahl akuter Abstossungsreaktionen unter einer Triple-Immunsuppression mit Cyclosporin A, Cortison und MMF. Möglicherweise spielt die Behandlung (subklinischer) akuter Abstossungsreaktionen auch in unserem Modell eine Rolle und beeinflusst die verbesserte Langzeitfunktion (212-214).

Diese Ergebnisse zeigten, zumindest in einem experimentellen Modell in der Ratte, die erfolgreiche Therapie chronischer Transplantatschäden.

Die erfolgreiche Therapie akuter Abstossungsreaktionen bietet eine weitere Möglickeit chronische Schäden zu beeinflussen.

Durch Differential Display RT-PCR Analysen wurde von Kooperationspartnern ein neues T-Zell Membran Protein (TIRC7) gefunden. Dieses Protein zeigte sich in der frühen Phase nach Antigenstimulation exprimiert. In-vitro Untersuchungen belegten eine Beeinflussung der TH1 assoziierten Immunantwort, während die TH2 assoziierte Immunantwort unbeeinflusst blieb. Akute Abstossungsreaktionen wurden von uns durch eine Antikörper-Therapie gegen dieses T-Zell Membran Protein behandelt. Hierbei zeigte sich eine signifikant verlängerte Transplantatfunktion bei einer weitestgehend normalen Morphologie nach einem frühen Beobachtungszeitraum. Neben einer Reduzierung der Schäden Alloantigen-unabhängiger Mechanismen könnten neue Therapiekonzepte der akuten Abstossungsreaktion zu einer verbesserten Langzeitfunktion beitragen.

Auf die bedeutende Rolle des Ischämie-/Reperfusionsschadens für die Entwicklung der chronischen Schäden wurde bereits hingewiesen. Eine erhöhte Anzahl verzögerter Transplantatfunktionen wurde als Folge dieser initialen Schäden beschrieben. Als Folge scheint es ebenso zu einer erhöhten Anzahl akuter Abstossungsreaktionen zu kommen (97). Schäden, die als Folge des Ischämie-/Reperfusionsschadens entstehen, scheinen zumindest teilweise durch Adhäsionsmoleküle vermittelt zu sein (215,216). Eine Antikörpertherapie gerichtet gegen Adhäsionsmoleküle konnte eine Reduzierung des Ischämie-/ Reperfusionsschadens belegen (153,217,218). In Kooperation führten wir eine Spenderbehandlung mit einer Anti-Sense Therapie, gerichtet gegen ICAM-1, durch. Der Einfluss dieser Therapie wurde in Auto- bzw. Isotransplanten verfolgt. In beiden Untersuchungen zeigte sich eine Reduzierung der Alloantigen-unabhängigen Schäden. Dieses Therapiekonzept bietet die Möglichkeit einer klinischen Anwendung durch eine Spendervorbehandlung.

In eigenen aktuellen Untersuchungen verfolgen wir ein Konzept einer immun-suppressiven Spendervorbehandlung bei der Verwendung von sogenannten marginalen Spenderorganen.

4. Zusammenfassung

In einer rasanten Entwicklung ist die Organtransplantation von einem experimentellen Verfahren zu einem etablierten Behandlungskonzept gereift. Während kontinuierlich verbesserte 1-Jahresfunktionsraten erzielt werden konnten, rückte gleichzeitig die unbefriedigende Langzeitfunktion in den Vordergrund. Verantwortlich für diesen Prozess ist in erster Linie ein Vorgang, der als chronische Transplantatabstossung oder chronisches Transplantatversagen beschrieben wird und für die einzelnen Organsysteme auf Grund funktioneller und morpholgischer Kriterien charakterisiert wird. Eine Vielzahl von experimentellen und klinischen Untersuchungen in jüngster Zeit haben zu einem verbesserten, jedoch nach wie vor unvollständigen Verständnis dieser Vorgänge beigetragen. Pathophysiologisch zeichnet sich ein Geschehen ab, das durch eine Reihe Alloantigen-abhängiger und -unabhängiger Faktoren geprägt ist, wobei die kausalen Zusammenhänge der einzelnen Faktoren unklar bleiben. Dieses Dilemma spiegelt sich nicht zuletzt auch in einer nicht klar definierten Terminologie wider. Während die Protagonisten eines Geschehens, das durch Alloantigen-unabhängige Faktoren bestimmt ist, die Begriffe chronische Transplantat-dysfunktion oder chronisches Transplantatversagen favorisieren, wird der Begriff 'Chronische Transplantatabstossung' als Terminologie eines durch Alloantigen-abhängige Faktoren bedingten Prozesses bevorzugt. In der vorgelegten Arbeit wurden die Begriffe parallel verwandt, da es sowohl Evidenzen für ein durch Alloantigen-abhängige, als auch für ein durch Alloantigen-unabhängige Faktoren bestimmtes Geschehen gibt.

Klinisch ist der chronische Transplantatverlust von erheblicher Bedeutung. Eine erfolgreiche Therapie ist aktuell nicht in Sicht. Gleichzeitig zeigt sich eine ausgeprägte Diskrepanz zwischen einer zunehmenden Anzahl von Patienten auf den Wartelisten und zur Verfügung stehenden Organen, nicht zuletzt auch als Folge des Transplantatverlustes durch chronische Abstossung. Das Ziel einer lebenslangen Therapie eines irreversibel geschädigten Organs durch die Transplantation ist bisher nicht erreicht.

In einer Serie experimenteller Arbeiten wurden die Mechanismen, Risikofaktoren sowie Therapieoptionen der chronischen Transplantatabstossung untersucht. Diese Studien trugen wesentlich zu einem verbesserten Verständnis des Prozesses als multifaktorielles Geschehen bei.

In einer initialen Untersuchung wurden die Mechanismen in einem experimentellen Modell analysiert. In diesem System ließen sich der humanen Situation vergleichbare Schädigungen beobachten. Pathophysiologisch konnte ein Prozess postuliert werden, bei dem nach einer initialen humoralen Reaktion, eine zelluläre Infiltration mit der Expression zahlreicher Zytokine und Wachstumsfaktoren parallel zu den charakteristischen morphologischen Veränderungen beobachtet werden konnte.

Die Analyse von Zellmigrationsvorgängen im Rahmen akuter und chronischer Abstosssungsvorgänge zeigte die bedeutende Rolle von Adhäsionsmolekülen in diesem Zusammenhang. In-vitro Versuche zeigten, dass die grosse Anzahl von Lymphozyten und Makrophagen/Monozyten im Transplantat zum Zeitpunkt der morphologischen Veränderungen eher durch eine lokale Proliferation, als durch eine Migration zu erklären sind. Für die akute Abstossungsreaktion zeigte sich insbesondere die Alloreaktivität des Transplantates für die Zelladhäsion von Bedeutung und weniger eine Aktivierung infiltrierender Zellen.

Zentraler Aspekt der eigenen Untersuchungen war die Analyse des Einflusses Alloantigen-abhängiger und -unabhängiger Faktoren auf die Langzeitfunktion.

Durch eine Rücktransplantation chronisch abgestossener Nierentransplantate in ein Tier des ursprünglichen Spenderstammes gelang es zwischen Alloantigen-abhängigen und -unabhängigen Einflüssen zu unterscheiden. Dieses immunologisch reizvolle Modell zeigte eine Reversibilität der chronischen Schäden nach einer Aufhebung der immunologischen Herausforderung durch eine syngene Rücktransplantation bis zu einem bestimmten Zeitpunkt. Wurde die immunologische Herausforderung durch eine Rücktransplantation erst zu einem späteren Zeitpunkt 'unterbrochen', waren die chronischen Schäden nicht mehr reversibel. Gleichzeitig zeigte sich bei einer Langzeitbeobachtung von Transplantaten, bei denen zunächst eine Reversibilität der chronischen Transplantatabstossung erzielt werden konnte, ein spätes Auftreten gering-gradiger chronischer Schäden. Diese Untersuchungen zeigten eine initiale Phase des chronischen Transplantatschadens, die durch Alloantigen-abhängige Einflüsse bestimmt war, und eine späte Phase, in der Alloantigen-unabhängige Einflüsse an Bedeutung zunahmen.

Der Einfluss Alloantigen-unabhängiger Vorgänge wurde in weiteren Untersuchungen isoliert und im Zusammenhang mit weiteren Risikofaktoren verfolgt.

Hierbei zeigten charakteristische Veränderungen der chronischen Transplantatdysfunktion in Isotransplantaten nach einem langen Beobachtungs-zeitraum den Einfluss Alloantigen-unspezifischer Faktoren. Diese Veränderungen ließen sich in Isotransplantaten 1 Jahr nach der Transplantation beobachten und entsprachen den Veränderungen in Allotransplanaten zu einem früheren Zeitpunkt (in unserem Modell nach 12-16 Wochen).

Als Grundlage dieser Vorgänge konnte in mehreren Arbeiten der Einfluss des Ischämie-/ Reperfusionsschadens sowie das Verhältnis von Transplantatmasse zu Körpergewicht gezeigt werden. Nach einer ischämischen Schädigung konnte bei gleichzeitiger Reduzierung der Nierenmasse durch eine kontralaterale Nephrektomie eine Langzeitschädigung, vergleichbar mit den Befunden in Isotransplantaten, beobachtet werden.

In einem Allotransplantationsmodell konnte bei gleichzeitig vorhandener kontralateraler Niere eine Reduzierung der chronischen Schäden im Vergleich zu Einzeltransplantaten gefunden werden. Die bedeutende Rolle des funktionierenden Nierenparenchyms wurde in weiteren Untersuchungen beobachtet, bei denen massenreduzierte Nierenallo-/isotransplantate oder native Nieren untersucht wurden. Hier zeigte sich eine Abhängigkeit der Schädigungen von der Masse des Transplantates bzw. eine Abhängigkeit von der Nierenmasse bei Kontrolltieren. Dabei war die Tatsache, ob es sich um ein Allo- oder Isotransplanatat handelte von geringer Bedeutung.

In einem Prozess eines multifaktoriellen Geschehens sind Zusammenhänge von Alloantigen-abhängigen und -unabhängigen Faktoren von Bedeutung. Als Alloantigen-abhängiger Einfluss spielen insbesondere akute Abstossungen für den Langzeitverlauf eine bedeutende Rolle.

In einem Konzept zur Erklärung der Pathophysiologie ist es denkbar, dass Langzeitschäden die Folge einer insuffizienten Therapie akuter Abstossungsreaktionen sind. In diesem Zusammenhang könnte eine subklinische, kontinuierliche, spezifische immunologische Auseinandersetzung als Folge einer nicht ausreichenden Immunsuppression, ebenso wie eine graduelle Abnahme funktionierenden

Organparenchyms nach suffizienter Therapie akuter Abstossungsperioden, einflussreich sein.

Experimentell wurde diese Frage durch Rücktransplantationen nach akuten Abstossungsreaktionen und einer anschliessenden Langzeitbeobachtung in einem syngenen Wirtstier überprüft. Hierbei zeigten sich akute Abstossungsreaktionen durch Rücktransplantationen zu einem frühen Zeitpunkt komplett reversibel. Spätschäden wurden in dieser Konstellation nicht beobachtet. Fortgeschrittene akute Abstossungsreaktionen hingegen waren durch eine Rücktransplantation nicht zu beeinflussen. Die komplette Reversibilität des akuten Abstossungsprozesses ging mit einem TH2-assoziierten Zell-/Zytokinmuster einher.

Diese Untersuchungen zeigen, dass eine frühzeitige, suffiziente Therapie akuter Abstossungsreaktionen zu einer verbesserten Langzeitfunktion beitragen könnte.

Klinisch kommt aktuell eine zwar erfolgreiche, jedoch unspezifische Immunsuppression mit einer Reihe von Nebenwirkungen zur Anwendung. Die Suche nach alternativen Wegen einer spezifischen Immunsuppression ist somit ein offensichtliches Ziel der Transplantations-medizin.

Zusammenhänge zwischen Toleranz-Induktion und chronischem Transplantatversagen wurden in eigenen Untersuchungen in einem Modell einer Allotransplantat-induzierten Toleranz untersucht. In diesem Modell konnten wir eine donor-spezifische, übertragbare Toleranz mit einem Ausbleiben von Langzeitschäden nach einer initialen Transplantation, für ein donor-spezifisches Zweittransplantat, beschreiben. In diesem experimentellen Ansatz ist neben einer Untersuchung der Mechanismen der Toleranz-Induktion einmal mehr der Zusammenhang zwischen Alloantigen-abhängigen und -unabhängigen Faktoren von Interesse.

Neben Untersuchungen zur Erklärung der Pathophysiologie scheinen Therapiekonzepte zur Verbesserung der Langzeitfunktion von dringender Bedeutung.

In Kooperation wurden neue Therapiekonzepte akuter Abstossungsreaktionen, chronischer Schädigungen sowie die Behandlung des Ischämie-/ Reperfusionsschadens untersucht.

Zusammengefasst trugen unsere Untersuchungen wesentlich zu einem verbesserten Verständnis des chronischen Transplantatschadens als multifaktorielles Geschehen bei.

Wege einer klinisch anwendbaren Verbesserung der chronischen Transplantatschädigung sind aktuell vordergründig. Neue Therapiekonzepte zur Verbesserung der Organqualität, eine frühzeitige und erfolgreiche Therapie akuter Abstossungen sind neben der Minimierung Alloantigen-unabhängiger Prozesse von Bedeutung.

Aktuell werden weitere DFG-geförderte experimentelle Untersuchungen, die nicht Teil dieser Habilitationsschrift sind, durchgeführt. Im Mittelpunkt stehen hierbei Strategien zur Verbesserung der Transplantatqualität von Organen marginaler Spender sowie die Mechanismen einer Allotransplantat-induzierten Toleranz.

5. Terminologie

Während die Kriterien der chronischen Transplantatabstossung für die einzelnen Organsysteme anhand funktioneller und morphologischer Kriterien klar definiert sind, gibt es zur Zeit keinen einheitlichen Terminus, der die eingeschränkte Langzeitfunktion beschreibt. Diese Situation kann als Ausdruck einer nicht eindeutigen Zuordnung dieses Prozesses im Bezug auf die nur inkomplett verstandene Pathophysiologie gewertet werden. Die Termini 'Chronische Transplantatabstossung', 'Chronisches Transplantatversagen', 'Chronische Transplantatdysfunktion', 'Chronische Nephropathie', 'Chronische Transplanatat-vaskulopathie', bzw. 'duktopenische Form der Abstossung' werden nebeneinander verwandt und spiegeln letztlich die Beteiligung Alloantigen-abhängiger und -unabhängiger Faktoren wider. In dieser Arbeit wurden die Begriffe 'Chronische Transplantatdysfunktion', 'Chronisches Transplantatversagen' bzw. 'Chronische Transplantatabstossung' nebeneineander verwandt, um den Ereignissen eines multifaktorellen Geschehens Rechnung zu tragen.

Die verschiedenen Abstossungsreaktionen werden abschliessend nochmals definiert.

5.1. Akute Abstossungen

Akute Transplantatabstossungen werden immunologisch als in erster Linie T-Zell vermittelt angesehen. Die Transplantation eines Organes oder eines Gewebes eines genetisch differenten Spenders hat eine komplexe Immunantwort innerhalb eines Zeitraumes weniger Tage zur Folge. In diesem Zusammenhang spielen eine Reihe von Faktoren, wie eine initiale Aktivierung von Adhäsionsmolekülen, die Aktivierung verschiedener Zellpopulationen, von diesen Zellen exprimierte Zytokine und Wachstumsfaktoren sowie der Einfluss einer Antikörperreaktion eine Rolle (219-221). Nach Gowans et al. kann die Immunantwort im Sinne eines neurologischen Regelkreises mit einer sensiblen und einer Effektorschiene verglichen werden (222). Hierbei ist die akute Transplantatabstossung mit der Expression der Zytokine IL-2, TNF-(sowie Interferon-assoziiert (223).

Eine Zunahme von IL-2 Rezeptoren sowie eine erhöhte Expression von MHC Klasse II Proteinen bewirkt eine weitere Produktion von Zytokinen und Wachstumsfaktoren mit einer folgenden Aktivierung von Effektorzellen und einer Destruktion des Transplantates (221,224,225).

Als morphologisches Korrelat lassen sich ausgeprägte zelluläre Infiltrate, in erster Linie T-Zellen und Makrophagen sowie ödematöse und nekrotische Veränderungen nachweisen.

Prognostischen Einfluss haben hierbei der Grad der genetischen Übereinstimmung, die initiale Transplantatfunktion, die Organspezifität sowie eine Sensibilisierung des Empfängers (226). Neben Alloantigen-abhängigen Faktoren scheinen für das Auftreten der akuten Abstossung auch Alloantigen-unabhängige Einflüsse von Bedeutung.

5.2. Beschleunigte/Akzelerierte Abstossungen

Das Problem der akzelierten oder beschleunigten Transplantatabstossung ist seit vielen Jahren bekannt. Bereits 1946 berichtete Medawar über eine beschleunigte Transplantatabstossung nach vorangegangener Bluttransfusion (227). Simenson

berichtete 1953 über eine beschleunigte Abstossung eines Nierentransplantates in präsensibilisierten Empfängern in einem Hundemodell (228). Diese Form der Abstossungsreaktion beruht auf induzierten oder bereits existierenden Antikörpern gegen donor-spezifische Zellen (229-231). Durch ein verbessertes Cross-Match hat die akzelerierte Abstossung an Bedeutung verloren (232,233). Gleichzeitig findet sich jedoch nach wie vor eine grosse Anzahl sensibilisierter Patienten auf den Wartelisten. Risikofaktoren für eine Sensibilisierung stellen in erster Linie der Transplantation vorangehende Bluttransfusionen, Schwangerschaften, bzw. ein früheres Organtransplantat dar. Daneben gibt es jedoch eine kleine Anzahl von Patienten (ca. 1%), die eine erhöhte Sensibilisierung ohne vorangehende Risikofaktoren aufweist (234,235).

Als Mass der Sensibilisierung wird hierbei das Niveau des Antikörpersuchtestes (PRA) angegeben (236,237), wenn gleich der Wert dieses Parameters durch das Auftreten akzelerierter Abstossungsreaktionen bei Patienten mit negativem Cross-match und Antikörpersuchtest in Frage gestellt wurde (238,239).

Als charakteristische histologische Veränderungen werden endotheliale Ablagerungen von Immunglobulinen, C3, Fibrin sowie einer ausgeprägten Infiltration mit neutrophilen Granulozyten und aktivierten mononukleären Zellen beobachtet.

5.3. Hyperakute Abstossungsreaktionen

Der Vorgang einer hyperakuten Transplantatabstossung im Rahmen einer Xenotransplantation gleicht im wesentlichen den Vorgängen einer Allotransplantation unter Vernachlässigung einer Blutgruppenkompatibilität. Pathophysiologisch kommt es hierbei zu einer Reaktion zwischen Xenoantikörpern und Xenoendothel mit einer anschliessenden Aktivierung der Komplement-Kaskade über den klassischen und alternativen Weg. Dieser Vorgang ist mit einem Verlust der natürlichen Antikoagulationseigenschaften des Endothels vergesellschaftet. Auf diesem Boden resultiert eine intravaskuläre Koagulation mit einer nachfolgenden ischämischen Nekrose (240,241). Als natürlicher Antikörper liess sich ein humanes IgG, der sogenannte anti-Gal Antikörper, nachweisen, der sich gegen das Galactose-anti-1,3 Galactose Epitop des Xenoendothels richtet (242).

Wichtig in diesem Zusammenhang ist die Unterscheidung zwischen konkordanten und diskordanten Spender-/Empfängerkonstellationen. Hierbei bezeichnet eine konkordante Beziehung einen phylogenetisch engeren Verwandtschaftsgrad, während der Begriff diskordant ein entferntes Verwandtschaftsverhältnis beschreibt (243). Während initial von einer Abwesenheit natürlicher Antikörper in konkordanten Systemen ausgegangen wurde, zeigen neuere Untersuchungen eher eine quantitative Unterscheidung (244).

5.4. Chronische Abstossungen/Chronische Transplantatdysfunktion

Als chronische Transplantatabstossung, bzw. chronische Transplantatdysfunktion wird eine graduelle, langsam fortschreitende Einschränkung der Transplantatfunktion beschrieben. Obwohl dieser Prozess seit vielen Jahren bekannt ist (42), stieg das Interesse an der Langzeitfunktion nach Organtransplantation erst mit einem besseren immunologischen Verständnis sowie verbesserter Behandlungs-möglichkeiten akuter Abstossungsreaktionen, verbesserter Perfusions- und Konservierungsmethoden, operativer Techniken sowie reduzierter Infektionsraten.

Die klinische Bedeutung einer eingeschränkten Langzeitfunktion ist evident. Interessant erscheint eine organspezifische Inzidenz der chronischen Transplantatdysfunktion.

Charakteristisch ist das zeitlich verzögerte Auftreten, eine Vielzahl Alloantigen-abhängiger und -unabhängiger Einflussgrössen und die morphologischen Kriterien, die einerseits ein organspezifisches Muster, andererseits als gemeinsames Merkmal eine progrediente Destruktion luminärer Strukturen zeigen.

6. Abkürzungen

BN	Brown Norway-Ratten
CD	Cluster of Differentiation
CD3	CD3 positive T-Zellen
CD4	CD4 positive T-Zellen
CD8	CD8 positive T-Zellen
cDNA	Zyklische Desoxyribonukleinsäure (Cyclic Desoxyribonuclein Acid)
CyA	Cyclosporin A
C3	Komplementfaktor C3
ED1	ED1 positive Monozyten/Makrophagen
F-344	Fischer 344-Ratten
FasL	Fas-Ligand
ICAM-1	Intercellular Adhesionmolecule 1
IFN-γ	Interferon-gamma
IgG	Immunglobulin G
IL-1	Interleukin-1
IL-2R	Interleukin-2-Rezeptor
IL-4	Interleukin-4
IL-6	Interleukin-6
IL-7	Interleukin-7
IL-8	Interleukin-8
iNOS	inducible Nitric Oxide Synthetase
LEW	LEWIS-Ratten
LEWxBNF1	Lewis x Brown Norway F1-Generation
LFA-1	Lymphocyte Function Associated Antigen-1 alpha
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein-1
MHC II	Major Histokompatibility Complex II
MMF	Mycophenolat Mofetil
PCR	Polymerase Chain Reaction
PRA	Panel Reactive Antibodies
TGF-β	Transforming Growth Factor beta
TNF-α	Tumornekrose Faktor alpha

7. Literatur

1. Tilney NL, Whitley WD, Diamond JR, Kupiec WJ, Adams DH: Chronic rejection-an undefined conundrum. Transplantation 1991, *52,* S389, 0041-1337.

2. Hayry P, Mennander A, Yilmaz S, et al: Towards understanding the pathophysiology of chronic rejection. Clin.Investig. 1992, *70,* S780, 0941-0198.

3. Paul LC, Fellstrom B: Chronic vascular rejection of the heart and the kidney-have rational treatment options emerged? Transplantation 1992, *53,* S1169, 0041-1337.

4. Tullius SG, Tilney NL: Both alloantigen-dependent and -independent factors influence chronic allograft rejection. Transplantation 1995, *59,* S313, 0041-1337.

5. Paul LC, Hayry P, Foegh M, et al: Diagnostic criteria for chronic rejection/accelerated graft atherosclerosis in heart and kidney transplants: joint proposal from the Fourth Alexis Carrel Conference on Chronic Rejection and Accelerated Arteriosclerosis in Transplanted Organs. Transplant Proc. 1993, *25,* S2022, 0041-1345.

6. Hume DM, Merrill JP, Miller BF, Thorn GW: Experience with renal homotransplantation in the human: Report of nine cases. J.Clin.Invest. 1955, *34,* S326, 0021-9738.

7. Porter KA, Thomson WB, Owen K, Kenyon JR, Mowbray JF: Obliterative changes in four kidney homotransplants. Br.J.Med.. 1963, *2,* S639,

8. Kincaid SP: Histological diagnosis of rejection of renal homografts in man. Lancet 1967, *2,* S849, 0140-6736.

9. Lindquist RR, Guttmann RD, Merrill JP, Dammin GJ: Human renal allografts. Interpretation of morphologic and immunohistochemical observations. Am.J.Pathol. 1968, *53,* S851, 0002-9440.

10. Busch GJ, Galvanek EG, Reynolds ES Jr: Human renal allografts. Analysis of lesions in long-term survivors. Hum.Pathol. 1971, *2,* S253, 0046-8177.

11. Sibley RK, Payne W: Morphologic findings in the renal allograft biopsy. Semin.Nephrol. 1985, *5,* S294, 0270-9295.

12. Thompson JG: Atheroma in a transplanted heart. Lancet 1969, *2,* S1297, 0140-6736.

13. Bieber CP, Stinson EB, Shumway NE, Payne R, Kosek J: Cardiac transplantation in man. VII. Cardiac allograft pathology. Circulation 1970, *41,* S753, 0009-7322.

14. Billingham ME: Cardiac transplant atherosclerosis. Transplant Proc. 1987, *19,* S19, 0041-1345.

15. Uretsky BF, Murali S, Reddy PS, et al: Development of coronary artery disease in cardiac transplant patients receiving immunosuppressive therapy with cyclosporine and prednisone. Circulation 1987, *76,* S827, 0009-7322.

16. Starzl TE, Porter KA, Brettschneider L, et al: Clinical and pathologic observations after orthotopic transplantation of the human liver. Surg.Gynecol.Obstet. 1969, *128,* S327, 0039-6087.

17. Demetris AJ, Lasky S, van Thiel DH, Starzl TE, Dekker A: Pathology of hepatic transplantation. A review of 62 adult allograft recipients immunosuppressed with a cyclosporine/ steroid regimen. Am.J.Pathol. 1985, *118,* S151, 0002-9440.

18. Demetris AJ, Markus BH, Burnham J, et al: Antibody deposition in liver allografts with chronic rejection. Transplant Proc. 1987, *19,* S121, 0041-1345.

19. Freese DK, Snover DC, Sharp HL, Gross CR, Savick SK, Payne WD: Chronic rejection after liver transplantation: a study of clinical, histopathological and immunological features. Hrsg.: .: Hepatology 1991, *13,* S882, 0270-9139.

20. Derom F, Barbier F, Ringoir S, et al: Ten-month survival after lung homotransplantation in man. J.Thorac.Cardiovasc.Surg. 1971, *61,* S835, 0022-5223.

21. Yousem SA, Burke CM, Billingham ME: Pathologic pulmonary alterations in long-term human heart-lung transplantation. Hum.Pathol. 1985, *16,* S911, 0046-8177.

22. Cecka JM: The UNOS Scientific Renal Transplant Registry-ten years of kidney transplants. Clin.Transpl. 1997, *1,* 0890-9016.

23. Gjertson DW, Cecka JM, Terasaki PI: The relative effects of FK506 and cyclosporine on short- and long-term kidney graft survival. Transplantation 1995, *60,* S1384, 0041-1337.

24. Opelz G, Mickey MR, Terasaki PI: Calculations on long-term graft and patient survival in human kidney transplantation. Transplant Proc. 1977, *9,* S27, 0041-1345.

25. Schweitzer EJ, Matas AJ, Gillingham KJ, et al: Causes of renal allograft loss. Progress in the 1980s, challenges for the 1990s. Ann.Surg. 1991, *214,* S679, 0003-4932.

26. Mahony JF: Long term results and complications of transplantation: the kidney. Transplant Proc. 1989, *21,* S1433, 0041-1345.

27. Gao SZ, Schroeder JS, Hunt S, Stinson EB: Retransplantation for severe accelerated coronary artery disease in heart transplant recipients. Am.J.Cardiol. 1988, *62,* S876, 0002-9149.

28. Gao SZ, Schroeder JS, Alderman EL, et al: Clinical and laboratory correlates of accelerated coronary artery disease in the cardiac transplant patient. Circulation 1987, *76,* SV56, 0009-7322.

29. Bechstein WO, Keck H, Müller AR, et al: Inzidenz irreversibler ductopenischer Abstoßungen nach Lebertransplantationen. Zeitschrift für Transplantationsmedizin 1993 (Suppl.), *17,*

30. Wiesner RH, Ludwig J, van Hoek B, Krom RA: Current concepts in cell-mediated hepatic allograft rejection leading to ductopenia and liver failure. Hepatology 1991, *14,* S721, 0270-9139.

31. Stewart S: Pathology of lung transplantation. Semin.Diagn.Pathol. 1992, *9,* S210, 0740-2570.

32. Sutherland D, Gruessner A, Moudry MK: International Pancreas Transplant Registry report. Transplant Proc. 1994, *26,* S407, 0041-1345.

33. Nakhleh RE, Sutherland DE: Pancreas rejection: Significance of histopathologic findings with implications for classification of rejection. Am.J.Surg.Pathol. 1992, *16,* S1098, 0147-5185.

34. Goulet O, Revillon Y, Jan D, et al: Small-bowel transplantation in children. Transplant Proc. 1990, *22,* S2499, 0041-1345.

35. Langrehr JM, Banner B, Lee KK, Schraut WH: Clinical course, morphology, and treatment of chronically rejecting small bowel allografts. Transplantation 1993, *55,* S242, 0041-1337.

36. Rose ML: Antibody-mediated rejection following cardiac transplantation. Transplantation Reviews 1993, *7,* S140,

37. Russell PS, Chase CM, Winn HJ, Colvin RB: Coronary atherosclerosis in transplanted mouse hearts. II. Importance of humoral immunity. J.Immunol. 1994, *152,* S5135, 0022-1767.

38. Suciu-Foca N, Reed E, D'Agati VD, et al: Soluble HLA antigens, anti-HLA antibodies, and antiidiotypic antibodies in the circulation of renal transplant recipients. Transplantation 1991, *51,* S593, 0041-1337.

39. Hancock WH, Whitley WD, Tullius SG, et al: Cytokines, adhesion molecules, and the pathogenesis of chronic rejection of rat renal allografts. Transplantation 1993, *56,* S643, 0041-1337.

40. Tilney NL: Renal transplantation between identical twins: a review. World J.Surg. 1986, *10,* S381, 0364-2313.

41. Dammin GJ: Renal transplants Correlations of histological patterns with function. Hrsg.: Mostofi FK, Smith DE, eds: The Kidney, International Acadamy of Pathology, Monographie Nr.6 Baltimore, Williams and Wilkins, 1966 S445,

42. Glassock RJ, Feldman D, Reynolds ES, Dammin GJ, Merrill JP: Human renal isografts: a clinical and pathologic analysis. Medicine 1968, *47,* S411, 0025-7974.

43. Kasiske BL: Clinical correlates to chronic renal allograft rejection. Kidney Int. Suppl. 1997, *63,* S71, 0098-6577.

44. Rao KV, Kasiske BL, Odlund MD, Ney AL, Andersen RC: Influence of cadaver donor age on posttransplant renal function and graft outcome. Transplantation 1990, *49,* S91, 0041-1337.

45. Wahlberg J, Tufveson G, Larsson A, Backman U, Frodin L: Influence of the age of cadaveric kidney donors on transplantation outcome and rate of surgical complications. Scand.J.Urol.Nephrol.Suppl. 1990, *131,* S39, 0300-8886.

46. Alexander JW, Bennett LE, Breen TJ: Effect of donor age on outcome of kidney transplantation. A two-year analysis of transplants reported to the United Network for Organ Sharing Registry. Transplantation 1994, *57,* S871, 0041-1337.

47. Isoniemi H, Nurminen M, Tikkanen MJ, et al: Risk factors predicting chronic rejection of renal allografts. Transplantation 1994, *57,* S68, 0041-1337.

48. Weis M, von Scheidt W: Cardiac allograft vasculopathy: a review. Circulation 1997, *96,* S2069, 0009-7322.

49. Chertow GM, Milford EL, Mackenzie HS, Brenner BM: Antigen-independent determinants of cadaveric kidney transplant failure. JAMA 1996, *276,* S1732, 0098-7484.

50. Cecka JM, Terasaki PI: The UNOS scientific renal transplant registry. United Network for Organ Sharing. Clin.Transpl. 1995, *1,* 0890-9016.

51. Nagano H, Tilney NL: Chronic allograft failure: the clinical problem. Am.J.Med.Sci. 1997, *313,* S305, 0002-9629.

52. Morris PJ, Johnson RJ, Fuggle SV, Belger MA, Briggs JD: Analysis of factors that affect outcome of primary cadaveric renal transplantation in the UK. Lancet 1999, *354,* S1147, 0140-6736.

53. Chertow GM, Brenner BM, Mackenzie HS, Milford EL: Non-immunologic predictors of chronic renal allograft failure: data from the United Network of Organ Sharing. Kidney Int.Suppl. 1995, *52,* S48, 0098-6577.

54. Terasaki PI, Koyama H, Cecka JM, Gjertson DW: The hyperfiltration hypothesis in human renal transplantation. Transplantation 1994, *57,* S1450, 0041-1337.

55. Tesi RJ, Elkhammas EA, Davies EA, Henry ML, Ferguson RM: Renal transplantation in older people. Lancet 1994, *343,* S461, 0140-6736.

56. Brenner BM, Cohen RA, Milford EL: In renal transplantation, one size may not fit all. J.Am.Soc.Nephrol. 1992, *3,* S162, 1046-6673.

57. Novick AC, Gephardt G, Guz B, Steinmuller D, Tubbs RR: Long-term follow-up after partial removal of a solitary kidney. N.Engl.J.Med. 1991, *325,* S1058, 0028-4793.

58. Najarian JS, Chavers BM, McHugh LE, Matas AJ: 20 years or more of follow-up of living kidney donors. Lancet 1992, *340,* S807, 0140-6736.

59. Frei U, Schindler R, Wieters D, Grouven U, Brunkhorst R, Koch KM: Pre-transplant hypertension: a major risk factor for chronic progressive renal allograft dysfunction? Nephrol.Dial.Transplant 1995, *10,* S1206, 0931-0509.

60. Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, et al: Brain death and its influence on donor organ quality and outcome after transplantation. Transplantation 1999, *67,* S343, 0041-1337.

61. Cushing H: Some experimental and clinical observations concerning states of increased intracranial tension. Am.J.Med.Sci. 1902, *124,* S373, 0002-9629.

62. Boyd GL, Phillips MG, Henry ML: Cadaver donor management. In Hrsg.: Philipps MG, ed: Organ procurement, preservation and distribution in transplantation Richmond, VA, 1996 S81,

63. Finkelstein I, Toledo PL, Castellanos J: Physiologic and hormonal changes in experientally induced brain dead dogs. Transplant.Proc. 1987, *19,* S4156, 0041-1345.

64. Macoviak JA, McDougall IR, Bayer MF, Brown M, Tazelaar H, Stinson EB: Significance of thyroid dysfunction in human cardiac allograft procurement. Transplantation 1987, *43,* S824, 0041-1337.

65. Mertes PM, el Abassi K, Jaboin Y, et al: Changes in hemodynamic and metabolic parameters following induced brain death in the pig. Transplantation 1994, *58,* S414, 0041-1337.

66. Masson F, Thicoipe M, Latapie MJ, Maurette P: Thyroid function in brain-dead donors. Transpl.Int. 1990, *3,* S226, 0934-0874.

67. Novitzky D, Cooper DK, Reichart B: Hemodynamic and metabolic responses to hormonal therapy in brain-dead potential organ donors. Transplantation 1987, *43,* S852, 0041-1337.

68. Gramm HJ, Meinhold H, Bickel U, et al: Acute endocrine failure after brain death? Transplantation 1992, *54,* S851, 0041-1337.

69. Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, Hancock WW, Tilney NL: Acute rejection of rat renal allografts is accelerated by donor brain death. Transplant Proc. 1999, *31,* S874, 0041-1345.

70. Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, Hancock WW, Tilney NL: Activation of proinflammatory genes in somatic organs as a consequence of brain death. Transplant Proc. 1999, *31,* S1003, 0041-1345.

71. Wicomb WN, Novitzky D, Cooper DK, Rose AG: Forty-eight hours hypothermic perfusion storage of pig and baboon hearts. J.Surg.Res. 1986, *40,* S276, 0022-4804.

72. Wicomb WN, Cooper DK, Lanza RP, Novitzky D, Isaacs S: The effects of brain death and 24 hours' storage by hypothermic perfusion on donor heart function in the pig. J.Thorac.Cardiovasc.Surg. 1986, *91,* S896, 0022-5223.

73. Cooper DK, Novitzky D, Wicomb WN: The pathophysiological effects of brain death on potential donor organs, with particular reference to the heart. Ann.R.Coll.Surg.Engl. 1989, *71,* S261, 0035-8843.

74. Pratschke J, Wilhelm MJ, Hancock WW, Tullius SG, Neuhaus P, Tilney NL: Akzelerierte akute Rejektion allogener Nierentransplantate von hirntoten Organspendern. Accelerated rate of acute rejection of renal allografts from brain dead organ-donors. Langenbecks.Arch.Chir.Suppl. 1999, *1,*

75. Land W, Messmer K: The impact of ischemia/reperfusion injury on specific and non-specific early and late chronic events after organ transplantation. Transplantation Reviews 1998, *10,* S108,

76. Azuma H, Nadeau K, Mackenzie HS, Brenner BM, Tilney NL: Nephron mass modulates the hemodynamic, cellular, and molecular response of the rat renal allograft. Transplantation 1997, *63,* S519, 0041-1337.

77. Azuma H, Nadeau K, Takada M, Mackenzie HS, Tilney NL: Cellular and molecular predictors of chronic renal dysfunction after initial ischemia/reperfusion injury of a single kidney. Transplantation 1997, *64,* S190, 0041-1337.

78. Azuma H, Nadeau K, Takada M, Tilney NL: Initial ischemia/reperfusion injury influences late functional and structural changes in the kidney. Transplant Proc. 1997, *29,* S1528, 0041-1345.

79. Tilney NL, Kusaka M, Pratschke J, Wilhelm M: Chronic rejection. Transplant Proc. 1998, *30,* S1590, 0041-1345.

80. Hariharan S, McBride MA, Bennett LE, Cohen EP: Risk factors for renal allograft survival from older cadaver donors. Transplantation 1997, *64,* S1748, 0041-1337.

81. Terasaki PI, Gjertson DW, Cecka JM, Takemoto S, Cho YW: Significance of the donor age effect on kidney transplants. Clin.Transplant 1997, *11,* S366, 0902-0063.

82. Terasaki PI, Cecka JM, Gjertson DW, Takemoto S: High survival rates of kidney transplants from spousal and living unrelated donors. N.Engl.J.Med. 1995, *333,* S333, 0028-4793.

83. Almond PS, Matas A, Gillingham K, et al: Risk factors for chronic rejection in renal allograft recipients. Transplantation 1993, *55,* S752, 0041-1337.

84. Myers BD, Ross J, Newton L, Luetscher J, Perlroth M: Cyclosporine-associated chronic nephropathy. N.Engl.J.Med. 1984, *311,* S699, 0028-4793.

85. Mennander A, Tiisala S, Paavonen T, Halttunen J, Hayry P: Chronic rejection of rat aortic allograft. II. Administration of cyclosporin induces accelerated allograft arteriosclerosis. Transpl.Int. 1991, *4,* S173, 0934-0874.

86. Feehally J, Harris KP, Bennett SE, Walls J: Is chronic renal transplant rejection a non-immunological phenomenon? Lancet 1986, *2,* S486, 0140-6736.

87. Adams DH, Karnovsky MJ: Hypercholesterolemia does not exacerbate arterial intimal thickening in chronically rejecting rat cardiac allografts. Transplant Proc. 1989, *21,* S437, 0041-1345.

88. Grattan MT, Moreno CC, Starnes VA, Oyer PE, Stinson EB, Shumway NE: Cytomegalovirus infection is associated with cardiac allograft rejection and atherosclerosis. JAMA 1989, *261,* S3561, 0098-7484.

89. Loebe M, Schuler S, Zais O, Warnecke H, Fleck E, Hetzer R: Role of cytomegalovirus infection in the development of coronary artery disease in the transplanted heart. J.Heart Transplant 1990, *9,* S707, 0887-2570.

90. Koskinen PK: The association of the induction of vascular cell adhesion molecule-1 with cytomegalovirus antigenemia in human heart allografts. Transplantation 1993, *56,* S1103, 0041-1337.

91. Beck S, Barrell BG: Human cytomegalovirus encodes a glycoprotein homologous to MHC class-I antigens. Nature 1988, *331,* S269, 0028-0836.

92. Basadonna GP, Matas AJ, Gillingham KJ, et al: Early versus late acute renal allograft rejection: impact on chronic rejection. Transplantation 1993, *55,* S993, 0041-1337.

93. 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,* S323, 0041-1337.

94. Cook DJ, Terasaki PI: Renal transplantation on the American continent. Hrsg.: Brent L, Sells RA, eds : Organ Transplantation Current clinical and immunological concepts London, Balliere Tindall, 1989 S195,

95. Takemoto S, Terasaki PI, Cecka JM, Cho YW, Gjertson DW: Survival of nationally shared, HLA-matched kidney transplants from cadaveric donors. The UNOS Scientific Renal Transplant Registry. Hrsg.: .: N.Engl.J.Med. 1992, *327,* S834, 0028-4793.

96. Foster MC, Rowe PA, Dennis MJ, Morgan AG, Burden RP, Blamey RW: Characteristics of cadaveric renal allograft recipients developing chronic rejection. Ann.R.Coll.Surg.Engl. 1990, *72,* S23, 0035-8843.

97. Troppmann C, Gillingham KJ, Benedetti E, et al: Delayed graft function, acute rejection, and outcome after cadaver renal transplantation. The multivariate analysis. Hrsg.: .: Transplantation 1995, *59,* S962, 0041-1337.

98. Pfaff WW, Howard RJ, Patton PR, Adams VR, Rosen CB, Reed AI: Delayed graft function after renal transplantation. Transplantation 1998, *65,* S219, 0041-1337.

99. Giral CM, Hourmant M, Cantarovich D, et al: Delayed graft function of more than six days strongly decreases long-term survival of transplanted kidneys. Kidney Int. 1998, *54,* S972, 0085-2538.

100. Opelz G: Critical evaluation of the association of acute with chronic graft rejection in kidney and heart transplant recipients. The Collaborative Transplant Study. Transplant Proc. 1997, *29,* S73, 0041-1345.

101. Reinke P, Fietze E, Docke WD, Kern F, Ewert R, Volk HD: Late acute rejection in long-term renal allograft recipients. Diagnostic and predictive value of circulating activated T cells. Transplantation 1994, *58,* S35, 0041-1337.

102. Gregory CR, Huang X, Pratt RE, et al: Treatment with rapamycin and mycophenolic acid reduces arterial intimal thickening produced by mechanical injury and allows endothelial replacement. Transplantation 1995, *59,* S655, 0041-1337.

103. Gregory CR, Huie P, Billingham ME, Morris RE: Rapamycin inhibits arterial intimal thickening caused by both alloimmune and mechanical injury. Its effect on cellular, growth factor, and cytokine response in injured vessels. Transplantation 1993, *55,* S1409, 0041-1337.

104. Reinke P, Fietze E, Ode HS, et al: Late-acute renal allograft rejection and symptomless cytomegalovirus infection. Lancet 1994, *344,* S1737, 0140-6736.

105. Azuma H, Chandraker A, Nadeau K, et al: Blockade of T-cell costimulation prevents development of experimental chronic renal allograft rejection. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 1996, *93,* S12439, 0027-8424.

106. Russell ME, Hancock WW, Akalin E, et al: Chronic cardiac rejection in the LEW to F344 rat model. Blockade of CD28-B7 costimulation by CTLA4Ig modulates T cell and macrophage activation and attenuates arteriosclerosis. J.Clin.Invest. 1996, *97,* S833, 0021-9738.

107. Chandraker A, Azuma H, Nadeau K, et al: Late blockade of T cell costimulation interrupts progression of experimental chronic allograft rejection. J.Clin.Invest. 1998, *101,* S2309, 0021-9738.

108. White E, Hildemann WH, Mullen Y: Chronic kidney allograft reactions in rats. Transplantation 1969, *8,* S602, 0041-1337.

109. Klempnauer J, Marquarding E: RT1.C and rat bone marrow transplantation. Transplant Proc. 1989, *21,* S3292, 0041-1345.

110. Lubaroff DM, Rasmussen GT, Hunt HD: The RT6 T cell antigen: its role in the identification of functional subsets and in T cell activation. Transplant Proc. 1989, *21,* S3251, 0041-1345.

111. Diamond JR, Tilney NL, Frye J, et al: Progressive albuminuria and glomerulosclerosis in a rat model of chronic renal allograft rejection. Transplantation 1992, *54,* S710, 0041-1337.

112. Pleau ME, Hancock WW: Studies of the human and rat macrophage receptor for interleukin-2 (IL-2R): induction and demonstration that IL-2 boosts interleukin-1 production by IL-2R+ macrophages. Transplant Proc. 1989, *21,* S140, 0041-1345.

113. Kovacs EJ: Fibrogenic cytokines: the role of immune mediators in the development of scar tissue. Immunol.Today 1991, *12,* S17, 0167-4919.

114. Horii Y, Muraguchi A, Iwano M, et al: Involvement of IL-6 in mesangial proliferative glomerulonephritis. J.Immunol. 1989, *143,* S3949, 0022-1767.

115. Diamond JR: Analogous pathobiologic mechanisms in glomerulosclerosis and atherosclerosis. Kidney Int.Suppl. 1991, *31,* S29, 0098-6577.

116. Van Goor H, Fidler V, Weening JJ, Grond J: Determinants of focal and segmental glomerulosclerosis in the rat after renal ablation. Evidence for involvement of macrophages and lipids. Lab.Invest. 1991, *64,* S754, 0023-6837.

117. Kashgarian M, Sterzel RB: The pathobiology of the mesangium. Kidney Int. 1992, *41,* S524, 0085-2538.

118. Teraoka S, Takahashi K, Toma H, et al: New approach to management of chronic vascular rejection with prostacyclin analogue after kidney transplantation. Transplant Proc. 1987, *19,* S2115, 0041-1345.

119. Ren KY, Brentjens J, Chen YX, Brodkin M, Noble B: Glomerular macrophage proliferation in experimental immune complex nephritis. Clin.Immunol.Immuno-pathol. 1991, *60,* S384, 0090-1229.

120. Toyabe S, Iwanaga T: An ultrastructural study of proliferative nephritis induced experimentally by a monoclonal antibody against mesangial cells: replacement of mesangial cells by cells of the monocyte-macrophage system. Virchows Arch.B.Cell Pathol.Incl.Mol.Pathol. 1992, *61,* 0340-6075.

121. Springer TA: Adhesion receptors of the immune system. Nature 1990, *346,* S425, 0028-0836.

122. Isobe M, Yagita H, Okumura K, Ihara A: Specific acceptance of cardiac allograft after treatment with antibodies to ICAM-1 and LFA-1. Science 1992, *255,* S1125, 0036-8075.

123. Turunen JP, Mattila P, Halttunen J, Häyry P, Renkonen R: Evidence that lymphocyte traffic into rejecting cardiac allografts is CD11a- and CD49d-dependent. Transplantation 1992, *54,* S1053, 0041-1337.

124. Shimizu Y, Newman W, Gopal TV, et al: Four molecular pathways of T cell adhesion to endothelial cells: roles of LFA-1, VCAM-1, and ELAM-1 and changes in pathway hierarchy under different activation conditions. J.Cell Biol. 1991, *113,* S1203, 0021-9525.

125. Graber N, Gopal TV, Wilson D, Beall LD, Polte T, Newman W: T cells bind to cytokine-activated endothelial cells via a novel, inducible sialoglycoprotein and endothelial leukocyte adhesion molecule-1. J.Immunol. 1990, *145,* S819, 0022-1767.

126. Matsumoto K, Atkins RC: Glomerular cells and macrophages in the progression of experimental focal and segmental glomerulosclerosis. Am.J.Pathol. 1989, *134,* S933, 0002-9440.

127. Suranyi MG, Bishop GA, Clayberger C, et al: Lymphocyte adhesion molecules in T cell-mediated lysis of human kidney cells. Kidney Int. 1991, *39,* S312, 0085-2538.

128. Brockmeyer C, Ulbrecht M, Schendel DJ, et al: Distribution of cell adhesion molecules (ICAM-1, VCAM-1, ELAM-1) in renal tissue during allograft rejection. Transplantation 1993, *55,* S610, 0041-1337.

129. Adams DH, Hubscher SG, Shaw J, Rothlein R, Neuberger JM: Intercellular adhesion molecule 1 on liver allografts during rejection. Lancet 1989, *2,* S1122, 0140-6736.

130. Mues B, Brisse B, Steinhoff G, et al: Diagnostic assessment of macrophage phenotypes in cardiac transplant biopsies. Eur.Heart J. 1991, *12,* S32, 0195-668X.

131. Pelletier RP, Ohye RG, Vanbuskirk A, et al: Importance of endothelial VCAM-1 for inflammatory leukocytic infiltration in vivo. J.Immunol. 1992, *149,* S2473, 0022-1767.

132. Cosimi AB, Conti D, Delmonico FL, et al: In vivo effects of monoclonal antibody to ICAM-1 (CD54) in nonhuman primates with renal allografts. J.Immunol. 1990, *144,* S4604, 0022-1767.

133. Haug CE, Colvin RB, Delmonico FL, et al: A phase I trial of immunosuppression with anti-ICAM-1 (CD54) mAb in renal allograft recipients. Transplantation 1993, *55,* S766, 0041-1337.

134. Coffman TM, Sanfilippo FP, Brazy PC, Yarger WE, Klotman PE: Bilateral native nephrectomy improves renal isograft function in rats. Kidney Int. 1986, *30,* S20, 0085-2538.

135. Murray JE, Balankura O, Greenberg JB, et a: Reversibility of the kidney homograft reaction by retransplantation and drug therapy. Ann.Ny.Acad.Sci. 1962, *99,* S768,

136. Osteen RT, Klebanoff G: The vascular determinants of reversible rejection. J.Surg.Res. 1970, *10,* S245, 0022-4804.

137. Kupiec WJ, Araujo JL, Towpik E, Araneda D, Tilney NL: Host-graft relationship: the systemic nature of allograft rejection. Surgery 1985, *98,* S259, 0039-6060.

138. Mennander A, Hayry P: Reversibility of allograft arteriosclerosis after retransplantation to donor strain. Transplantation 1996, *62,* S526, 0041-1337.

139. Izutani H, Miyagawa S, Shirakura R, et al: Evidence that graft coronary arteriosclerosis begins in the early phase after transplantation and progresses without chronic immunoreaction. Histopathological analysis using a retransplantation model. Transplantation 1995, *60,* S1073, 0041-1337.

140. Izutani H, Miyagawa S, Mikata S, Shirakura R, Matsuda H: Essential initial immunostimulation in graft coronary arteriosclerosis induction detected by retransplantation technique in rats: the participation of T cell subsets. Transpl.Immunol. 1997, *5,* S11, 0966-3274.

141. Kootte AM, Paul LC: Cyclosporine therapy or dietary protein manipulation in chronic renal allograft rejection. Transplant Proc. 1988, *20,* S821, 0041-1345.

142. Perico N, Detcheva A, Khalil EI, Remuzzi G: Cyclosporine induces glomerulosclerosis: three-dimensional definition of the lesions in a rat model of renal transplant. Kidney Int. 1996, *49,* S1283, 0085-2538.

143. Sumrani N, Delaney V, Ding ZK, Butt K, Hong J: HLA-identical renal transplants: impact of cyclosporine on intermediate-term survival and renal function. Am.J.Kidney Dis. 1990, *16,* S417, 0272-6386.

144. Ferns G, Reidy M, Ross R: Vascular effects of cyclosporine A in vivo and in vitro. Am.J.Pathol. 1990, *137,* S403, 0002-9440.

145. Nadeau KC, Azuma H, Tilney NL: Sequential cytokine dynamics in chronic rejection of rat renal allografts: roles for cytokines RANTES and MCP-1. Proc.Natl. Acad.Sci.U.S.A. 1995, *92,* S8729, 0027-8424.

146. Van Es A, Hermans J, van Bockel JH, Persijn GG, van Hooff JP, de Graeff J: Effect of warm ischemia time and HLA (A and B) matching on renal cadaveric graft survival and rejection episodes. Transplantation 1983, *36,* S255, 0041-1337.

147. Yilmaz S, Paavonen T, Hayry P: Chronic rejection of rat renal allografts. II. The impact of prolonged ischemia time on transplant histology. Transplantation 1992, *53,* S823, 0041-1337.

148. Tullius SG, Reutzel-Selke A, Nieminen-Kelhä M, et al: The contribution of prolonged ischemia and donor age on chronic renal allograft dysfunction. J.Am.Soc.Nephrol. 1999, *in Press,*

149. Kelly KJ, Bonventre JV: Ischemia/reperfusion injury in transplantation. In Hrsg.: Tilney NL, Strom TB, Paul LC, eds: Transplantation biology: Cellular and molecular aspects Philadelphia, PA, Lippincott-Raven,, 1996

150. Floege J, Eng E, Young BA, Johnson RJ: Factors involved in the regulation of mesangial cell proliferation in vitro and in vivo. Kidney Int.Suppl. 1993, *39,* S47, 0098-6577.

151. Shackleton CR, Ettinger SL, McLoughlin MG, Scudamore CH, Miller, Keown PA: Effect of recovery from ischemic injury on class I and class II MHC antigen expression. Transplantation 1990, *49,* S641, 0041-1337.

152. Shoskes DA: Effect of bioflavonoids quercetin and curcumin on ischemic renal injury: a new class of renoprotective agents. Transplantation 1998, *66,* S147, 0041-1337.

153. Kelly KJ, Williams WW Jr, Colvin RB, Bonventre JV: Antibody to intercellular adhesion molecule 1 protects the kidney against ischemic injury. Proc.Natl.Acad. Sci.U.S.A. 1994, *91,* S812, 0027-8424.

154. Dragun D, Tullius SG, Park JK, et al: ICAM-1 antisense oligodesoxynucleotides prevent reperfusion injury and enhance immediate graft function in renal transplantation. Kidney Int. 1998, *54,* S590, 0085-2538.

155. Dragun D, Lukitsch I, Tullius SG, et al.: Inhibition of ICAM-1 by antisense oligonucleotides prevents ischemia/reperfusion injury and enables immediate graft function after renal transplantation. Kidney Int. 1998, *54,* S2113, 0085-2538.

156. Brenner BM, Meyer TW, Hostetter TH: Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation, and intrinsic renal disease. N.Engl.J.Med. 1982, *307,* S652, 0028-4793.

157. Brenner BM, Milford EL: Nephron underdosing: a programmed cause of chronic renal allograft failure. Am.J.Kidney Dis. 1993, *21,* S66, 0272-6386.

158. Mackenzie HS, Brenner BM: Renal mass: A determinant of late allograft outcome. Hrsg.: Tilney NL, Strom TB, Paul LC, eds: Transplantation biology. Cellular and molecular aspects Philadelphia,PA, Lippincott-Raven, 1996

159. Kiuchi T, Kasahara M, Uryuhara K, et al.: Impact of graft size mismatching on graft prognosis in liver transplantation from living donors. Transplantation 1999, *67,* S321, 0041-1337.

160. Emond JC, Renz JF, Ferrell LD, et al.: Functional analysis of grafts from living donors. Implications for the treatment of older recipients. Ann.Surg. 1996, *224,* S544, 0003-4932.

161. Meyer TW, Rennke HG: Progressive glomerular injury after limited renal infarction in the rat. Am.J.Physiol. 1988, *254,* S856, 0002-9513.

162. Bidani AK, Mitchell KD, Schwartz MM, Navar LG, Lewis EJ: Absence of glomerular injury or nephron loss in a normotensive rat remnant kidney model. Kidney Int. 1990, *38,* S28, 0085-2538.

163. Szabo A, Patschan O, Kuttler B, et a: Hypertension accelerates the pace of chronic graft dysfunction in the rat. Transpl.Int. 1998, *11,* S10, 0934-0874.

164. Mallick NP, Dyer P, Johnson RW: Transplantation in the elderly. Nephrol.Dial.Transplant 1996, *11Suppl9,* S95, 0931-0509.

165. Azuma H, Heemann UW, Tullius SG, Tilney NL: Cytokines and adhesion molecules in chronic rejection. Clin.Transplant. 1994, *8,* S168, 0902-0063.

166. Tullius SG, Heidenhain C, Reutzel-Selke A, et al.: Acceleration of chronic graft rejection by secondary donor-specific skin transplants. Transplantation (suppl.) 1999, *67,* S53,

167. Connolly JK, Dyer PA, Martin S, Parrott NR, Pearson RC, Johnson R: Importance of minimizing HLA-DR mismatch and cold preservation time in cadaveric renal transplantation. Transplantation 1996, *61,* S709, 0041-1337.

168. Opelz G, Wujciak T: Cadaveric kidneys should be allocated according to the HLA match. Transplant Proc. 1995, *27,* S93, 0041-1345.

169. Opelz G: Impact of HLA compatibility on survival of kidney transplants from unrelated live donors. Transplantation 1997, *64,* S1473, 0041-1337.

170. Fieguth HG, Wahlers T, Schafers HJ, Stangel W, Kemnitz J, Haverich A: Impact of HLA-compatibility on rejection sequence and survival rate after orthotopic heart transplantation. Transplant Proc. 1991, *23,* S1137, 0041-1345.

171. Valeri M, Adorno D, Piazza A, et al.: HLA-DR matching and graft survival in heart transplant. Transplant Proc. 1990, *22,* S1906, 0041-1345.

172. Opelz G: Effect of HLA matching in heart transplantation. Collaborative Heart Transplant Study. Transplant Proc. 1989, *21,* S794, 0041-1345.

173. Frist WH, Oyer PE, Baldwin JC, Stinson EB, Shumway NE: HLA compatibility and cardiac transplant recipient survival. Ann.Thorac.Surg. 1987, *44,* S242, 0003-4975.

174. Petrossian GA, Nichols AB, Marboe CC, et al.: Relation between survival and development of coronary artery disease and anti-HLA antibodies after cardiac transplantation. Circulation 1989, *80,* SIII122, 0009-7322.

175. Salomon RN, Hughes CC, Schoen FJ, Payne DD, Pober JS, Libby P: Human coronary transplantation-associated arteriosclerosis. Evidence for a chronic immune reaction to activated graft endothelial cells. Am.J.Pathol. 1991, *138,* S791, 0002-9440.

176. Hornick P, Smith J, Pomerance A, et al.: Influence of acute rejection episodes, HLA matching, and donor/ recipient phenotype on the development of 'early' transplant-associated coronary artery disease. Circulation 1997, *96,* SII, 0009-7322.

177. Candinas D, Gunson BK, Nightingale P, Hubscher S, McMaster P, Neuberger JM: Sex mismatch as a risk factor for chronic rejection of liver allografts. Lancet 1995, *346,* S1117, 0140-6736.

178. Adams D: Immunological aspects of clinical liver transplantation. Immunol.Lett. 1991, *29,* S69, 0165-2478.

179. Lowes JR, Hubscher SG, Neuberger JM: Chronic rejection of the liver allograft. Gastroenterol.Clin.North Am. 1993, *22,* S401, 0889-8553.

180. 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,* S857, 0041-1337.

181. van Saase JL, van der Woude F, Thorogood J, et al.: The relation between acute vascular and interstitial renal allograft rejection and subsequent chronic rejection. Transplantation 1995, *59,* S1280, 0041-1337.

182. Massy ZA, Guijarro C, Kasiske BL: Clinical predictors of chronic renal allograft rejection. Kidney Int.Suppl. 1995, *52,* S85, 0098-6577.

183. Stovin PG, Sharples LD, Schofield PM, et al.: Lack of association between endomyocardial evidence of rejection in the first six months and the later development of transplant-relatedcoronary artery disease. J.Heart Lung Transplant 1993, *12,* S110, 1053-2498.

184. Olivari MT, Homans DC, Wilson RF, Kubo SH, Ring WS: Coronary artery disease in cardiac transplant patients receiving triple-drug immunosuppressive therapy. Circulation 1989, *80,* SIII111, 0009-7322.

185. Narrod J, Kormos R, Armitage J, Hardesty R, Ladowski J, Griffith B: Acute rejection and coronary artery disease in long-term survivors of heart transplantation. J.Heart Transplant 1989, *8,* S418, 0887-2570.

186. Hullett DA, Geraghty JG, Stoltenberg RL, Sollinger HW: The impact of acute rejection on the development of intimal hyperplasia associated with chronic rejection. Transplantation 1996, *62,* S1842, 0041-1337.

187. Baan CC, Metselaar HJ, Mol WM, et al.: Intragraft IL-4 mRNA expression is associated with down-regulation of liver graft rejection. Clin.Transplant 1996, *10,* S542, 0902-0063.

188. Platzer C, Ode HS, Reinke P, Docke WD, Ewert R, Volk HD: Quantitative PCR analysis of cytokine transcription patterns in peripheral mononuclear cells after anti-CD3 rejection therapy using two novel multispecific competitor fragments. Transplantation 1994, *58,* S264, 0041-1337.

189. Reinke P, Schwinzer H, Hoflich C, et al.: Selective in vivo deletion of alloactivated TH1 cells by OKT3 monoclonal antibody in acute rejection. Immunol.Lett. 1997, *57,* S151, 0165-2478.

190. Dallman MJ: Cytokines and transplantation: Th1/Th2 regulation of the immune response to solid organ transplants in the adult. Curr.Opin.Immunol 1995, *7,* S632, 0952-7915.

191. Zheng XX, Steele AW, Nickerson PW, Steurer W, Steiger J, Strom T: Administration of noncytolytic IL-10/Fc in murine models of lipopolysaccharide-induced septic shock and allogeneic islet transplantation. J.Immunol. 1995, *154,* S5590, 0022-1767.

192. Steiger J, Nickerson PW, Steurer W, Moscovitch LM, Strom T: IL-2 knockout recipient mice reject islet cell allografts. J.Immunol. 1995, *155,* S489, 0022-1767.

193. van Besouw NM, Daane CR, Vaessen LM, Mochtar B, Balk AH, Weimar W: Donor-specific cytokine production by graft-infiltrating lymphocytes induces and maintains graft vascular disease in human cardiac allografts. Transplantation 1997, *63,* S1313, 0041-1337.

194. Ode HS, Docke WD, Kern F, Emmrich F, Volk HD, Reinke P: Delayed-type hypersensitivity-like mechanisms dominate late acute rejection episodes in renal allograft recipients. Transplantation 1996, *61,* S1233, 0041-1337.

195. Gammie JS, Li S, Zeevi A, Demetris AJ, Ildstad ST, Pham SM: Tacrolimus-based partial conditioning produces stable mixed lymphohematopoietic chimerism and tolerance for cardiac allografts. Circulation 1998, *98,* SII163, 0009-7322.

196. Blom D, Morrissey N, Mesonero C, et al.: Tolerance induction by intrathymic inoculation prevents chronic renal allograft rejection. Transplantation 1998, *65,* S272, 0041-1337.

197. Risch K, Heemann U, Graser E, et al.: Assessment of chronic rejection in permanent accepted renal allografts in anti-CD4 treated rats. Clin.Nephrol. 1996, *45,* S358, 0301-0430.

198. Sablinski T, Sayegh MH, Hancock WW, et al.: Differential role of CD4+ cells in the sensitization and effector phases of accelerated graft rejection. Transplantation 1991, *51,* S226, 0041-1337.

199. Welsh KI, Batchelor JR, Maynard A, Burgos H: Failure of long surviving, passively enhanced kidney allografts to provoke T-dependent alloimmunity. II. Retransplantation of (AS X AUG)F1 kidneys from AS primary recipients into (AS X WF) F1 secondary hosts. J.Exp.Med. 1979, *150,* S465, 0022-1007.

200. Batchelor JR, Welsh KI, Maynard A, Burgos H: Failure of long surviving, passively enhanced kidney allografts to provoke T-dependent alloimmunity. I. Retransplantation of (AS X AUG)F1 kidneys into secondary AS recipients. J.Exp.Med. 1979, *150,* S455, 0022-1007.

201. Batchelor JR, Phillips BE, Grennan D: Suppressor cells and their role in the survival of immunologically enhanced rat kidney allografts. Transplantation 1984, *37,* S43, 0041-1337.

202. Opelz G, Sengar DP, Mickey MR, Terasaki PI.: Effect of blood transfusions on subsequent kidney transplants. Transplant Proc. 1973, *5,* S253, 0041-1345.

203. Salvatierra O, Melzer J, Vincenti F, et al.: Donor-specific blood transfusions versus cyclosporine--the DST story. Transplant Proc. 1987, *19,* S160, 0041-1345.

204. Opelz G, Vanrenterghem Y, Kirste G, et al.: Prospective evaluation of pretransplant blood transfusions in cadaver kidney recipients. Transplantation 1997, *63,* S964, 0041-1337.

205. Subbotin V, Sun H, Aitouche A, et al.: Abrogation of chronic rejection in a murine model of aortic allotransplantation by prior induction of donor-specific tolerance. Transplantation 1997, *64,* S690, 0041-1337.

206. Akyurek LM, Johnsson C, Lange D, et al.: Tolerance induction ameliorates allograft vasculopathy in rat aortic transplants. Influence of Fas-mediated apoptosis. J.Clin.Invest. 1998, *101,* S2889, 0021-9738.

207. Starzl TE, Zinkernagel RM: Antigen localization and migration in immunity and tolerance. N.Engl.J.Med. 1998, *339,* S1905, 0028-4793.

208. Allison AC, Eugui EM, Sollinger HW: Mycophenolate mofetil (RS61443): mechanisms of action and effects in transplantation Transplant.Rev. 1993, *7,* S129,

209. Allison AC, Almquist SJ, Muller CD, Eugui EM: In vitro immunosuppressive effects of mycophenolic acid and an ester pro-drug, RS-61443. Transplant Proc. 1991, *23,* S10, 0041-1345.

210. Platz KP, Sollinger HW, Hullett DA, Eckhoff DE, Eugui EM, Allison AC: RS-61443-a new, potent immunosuppressive agent. Transplantation 1991, *51,* S27, 0041-1337.

211. Sollinger HW, Deierhoi MH, Belzer FO, Diethelm AG, Kauffman RS: RS-61443--a phase I clinical trial and pilot rescue study. Transplantation 1992, *53,* S428, 0041-1337.

212. European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group: Mycophenolate mofetil in renal transplantation 3-year results from the placebo-controlled trial. Transplantation 1999, *68,* S391, 0041-1337.

213. European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group: Placebo-controlled study of mycophenolate mofetil combined with cyclosporin and corticosteroids for prevention of acute rejection. Hrsg.: .: Lancet 1995, *345,* S1321, 0140-6736.

214. Sollinger HW: Mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal allograft recipients. U.S. Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group. Transplantation 1995, *60,* S225, 0041-1337.

215. Bonventre JV, Colvin RB: Adhesion molecules in renal disease. Curr.Opin.Nephrol.Hypertens. 1996, *5,* S254, 1062-4821.

216. Bevilacqua MP, Nelson RM, Mannori G, Cecconi O: Endothelial-leukocyte adhesion molecules in human disease. Annu.Rev.Med. 1994, *45,* S361, 0066-4219.

217. Farhood A, McGuire GM, Manning AM, Miyasaka M, Smith CW, Jaeschke H: Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) expression and its role in neutrophil-induced ischemia-reperfusion injury in rat liver. J.Leukoc.Biol. 1995, *57,* S368, 0741-5400.

218. Ioculano M, Squadrito F, Altavilla D, et al.: Antibodies against intercellular adhesion molecule 1 protect against myocardial ischaemia-reperfusion injury in rat. Eur.J.Pharmacol. 1994, *264,* S143, 0014-2999.

219. Mason DW, Morris PJ: Effector mechanisms in allograft rejection. Annu.Rev.Immunol. 1986, *4,* S119, 0732-0582.

220. Tilney NL, Kupiec WJ, Heidecke CD, Lear PA, Strom TB: Mechanisms of rejection and prolongation of vascularized organ allografts. Immunol.Rev. 1984, *77,* S185, 0105-2896.

221. Hayry P, von WE, Parthenais E, et al.: The inflammatory mechanisms of allograft rejection. Immunol.Rev. 1984, *77,* S85, 0105-2896.

222. Gowans JL, McGregor DD, Collen DM, et a: Initiation of immune response by small lymphocytes. Nature 1962, *196,* S651, 0028-0836.

223. Dallman MJ: Cytokines as mediators of organ graft rejection and tolerance. Curr.Opin.Immunol. 1993, *5,* S788, 0952-7915.

224. Hutchinson IV: Suppressor T cells in allogeneic models. Transplantation 1986, *41,* S547, 0041-1337.

225. Tilney NL, Kupiec WJ: The biology of acute transplant rejection. Ann.Surg. 1991, *214,* S98, 0003-4932.

226. Tilney NL, Kupiec WJ: Acute rejection. In Hrsg.: Tilney NL, Strom TB, Paul.L.C., eds: Transplantation Biology Philadelphia, PA, Lippincott-Raven, 1996

227. Medawar PB: Immunity to homologous grafted skin. II. The relationsship between the antigens of blood and skin. Br.J.Exp.Path. 1946, *27,* S15,

228. Simenson M, Buemann J, Grammeltof A, et a: Biological incompatibility in kidney transplantation in dogs. I. Experimental and morphological investigations. Acta Pathol.Microbiol.Scand. 1953,

229. Chapman JR, Taylor C, Ting A, Morris PJ: Hyperacute rejection of a renal allograft in the presence of anti-HLA-Cw5 antibody. Transplantation 1986, *42,* S91, 0041-1337.

230. Jordan SC, Yap HK, Sakai RS, Alfonso P, Fitchman M: Hyperacute allograft rejection mediated by anti-vascular endothelial cell antibodies with a negative monocyte crossmatch. Transplantation 1988, *46,* S585, 0041-1337.

231. Schuurman HJ, Jambroes G, Borleffs JC, Slootweg PJ, Meyling FH, de GG: Acute humoral rejection after heart transplantation. Transplantation 1988, *46,* S603, 0041-1337.

232. Sanfilippo FP, Vaughn WK, Peters TG, et al.: Factors affecting the waiting time of cadaveric kidney transplant candidates in the United States. JAMA 1992, *267,* S247, 0098-7484.

233. Koka P, Cecka JM: Sensitization and crossmatching in renal transplantation. Clin.Transpl. 1989, S379, 0890-9016.

234. Scornik JC, Salomon DR, Howard RJ, Pfaff WW: Evaluation of antibody synthesis in broadly sensitized patients. Transplantation 1988, *45,* S95, 0041-1337.

235. Opelz G: For the collaborative transplantation study. To transfuse or not before transplantation. In Hrsg.: Morris PJ, Tilney NL, eds: Transplantation Reviews, Volume 2 Philadelphia, PA, Pa Saunders, 1988 S77,

236. Opelz G: Influence of HLA matching on survival of second kidney transplants in cyclosporine-treated recipients. Transplantation 1989, *47,* S823, 0041-1337.

237. Lavee J, Kormos RL, Duquesnoy RJ, et al.: Influence of panel-reactive antibody and lymphocytotoxic crossmatch on survival after heart transplantation. J.Heart Lung Transplant 1991, *10,* S921, 1053-2498.

238. Brasile L, Zerbe T, Rabin B, Clarke J, Abrams A, Cerilli J: Identification of the antibody to vascular endothelial cells in patients undergoing cardiac transplantation. Transplantation 1985, *40,* S672, 0041-1337.

239. Cerilli J, Brasile L, Galouzis T, Lempert N, Clarke J: The vascular endothelial cell antigen system. Transplantation 1985, *39,* S286, 0041-1337.

240. Platt JL, Fischel RJ, Matas AJ, Reif SA, Bolman RM, Bach FH: Immunopathology of hyperacute xenograft rejection in a swine-to-primate model. Transplantation 1991, *52,* S214, 0041-1337.

241. Platt JL, Bach FH: The barrier to xenotransplantation. Transplantation 1991, *52,* S937, 0041-1337.

242. Galili U, Rachmilewitz EA, Peleg A, Flechner I: A unique natural human IgG antibody with anti-alpha-galactosyl specificity. J.Exp.Med. 1984, *160,* S1519, 0022-1007.

243. Calne RY: Organ transplantation between widely disparate species. Transplant Proc. 1970, *2,* S550, 0041-1345.

244. Aksentijevich I, Sachs DH, Sykes M: Natural antibodies can inhibit bone marrow engraftment in the rat-mouse species combination. J.Immunol. 1991, *147,* S4140, 0022-1767.

8. Tierversuchsgenehmigungen

Zur Durchführung der Tierversuche am Chirurgischen Forschungslabor der Harvard Medical School, Boston, MA., U.S.A., lagen die Genehmigungen der lokalen Behörden durch den Projektleiter, Prof. Dr. N.L. Tilney, vor.

Für die Tierversuche, die in Kooperation durchgeführt wurden, lag eine Genehmigung des Kooperationspartners vor.

Für die Versuche, die in Berlin als verantwortlicher Versuchsleiter durchgeführt wurden, lagen die Genehmigungen G 0223/94, G 0087/96 und G 0089/96 der lokalen Behörden (Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit; Berlin) vor.

9. Danksagungen

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. P. Neuhaus, Direktor der Chirurgischen Klinik und Poliklinik des Virchow Klinikums, Charité, Berlin, für seine stets großzügige Unterstützung meiner wissenschaftlichen und klinischen Tätigkeiten, für zahlreiche Anregungen sowie für die Bereitstellung optimaler Arbeitsbedingungen.

Herrn Professor Dr. N.L. Tilney, Francis D. Moore Professor of Surgery, Direktor des Chirurgischen Forschungslabors der Harvard Medical School, Boston, U.S.A. bin ich zu großem Dank verpflichtet. Während meiner wissenschaftlichen Tätigkeit in Boston war er mir stets ein inspirierender, kooperativer und freundschaftlicher Ansprechpartner.

Herzlichen Dank an Herrn Professor Dr. H.-D. Volk, Direktor des Institutes für Medizinische Immunologie, Charité, Berlin, der mich nach meiner Rückkehr aus den U.S.A. jederzeit wissenschaftlich unterstützte und in gemeinsamen Projekten ein stets anregender, freundschaftlicher Gesprächspartner war.

Ebenso geht mein großer Dank an zahlreiche Kollegen in Klinik und Wissenschaft, die meinen Weg unterstützend begleiteten. Stellvertretend seien hier die Herren Priv. Doz. Dr. W.O. Bechstein sowie Priv. Doz. Dr. S. Jonas für ihre stete, freundschaftliche und großzügige Mitwirkung genannt.

Bedanken möchte ich mich ebenso für die großzügige Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Durchführung meiner wissenschaftlichen Untersuchungen.

Meinen Mitarbeiterinnen Frau Dr. A. Reutzel-Selke und Frau M. Nieminen, deren Tätigkeiten durch Drittmittel finanziert wurde, danke ich herzlich.

Frau Dr. E. Graser, Institut für Medizinische Immunologie, Charité, Berlin danke ich für die Durchführung der PCR Analysen.

Herrn Prof. Dr. Köttgen, Herrn Priv. Doz. Dr. Sinha, Herrn Dr. Müller sowie Frau Katz, stellvertretend für zahlreiche hilfreiche Mitarbeiter des Institutes für klinische Chemie und Biochemie, danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Funktionsanalysen.

Herrn Prof. Dr. Hancock, Harvard Medical School Boston, U.S.A. sowie Herrn Prof. Lobeck und Herrn Friedrich, Institut für Pathologie, Charité, Berlin danke ich für die Hilfe bei der Durchführung der histologischen und immunhistologischen Untersuchungen.

Herrn Prof. Dr. Brenner und Herrn Dr. Mackenzie, Abteilung für Nephrologie, Harvard Medical School, Boston, U.S.A. danke ich für die Hilfe bei Funktionsanalysen sowie ihre stete kooperative Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. J. Kupiec-Weglinski, jetzt UCLA, Los Angeles, U.S.A, Herrn Prof. Dr. C. Carpenter, Herrn Prof. Dr. M. Sayegh, Abteilung für Immunogenetik, Harvard Medical School, sowie Herrn Prof. Dr. E. Milford, New England Organ Bank, Boston, U.S.A., danke für ihre vielen Ratschläge und ihre Unterstützung.

10. Lebenslauf

Dr. med. Stefan Günther Tullius
Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie
Charité- Virchow Klinikum, Humboldt Universität Berlin
Augustenburger Platz 1
13353 Berlin

Telefon:	030-4505-2303
Fax:	030-4505-2913
E-mail:	stefan.tullius@charite**.de**

Privatadresse:	Grolmanstr.15
	10623 Berlin
Telefon:	030-312 15 35
Fax:	030-31506854

Geburtsdatum:	05.03.1961
Geburtsort:	Bad - Kreuznach
Familienstand:	verheiratet

Studium der Humanmedizin:

1982-1988: Johann-Wolfgang Goethe Universität Frankfurt/Main

Dissertation:

1986-1989: Einfluss von donor-spezifischen und Fremdbluttransfusionen auf das Ergebnis der Nierentransplantation bei genetisch nicht identischen Ratten (Summa cum laude); Medizinische Fakultät der Johann Wolfgang Goethe Universität, Frankfurt/Main, 1989.

Klinische Tätigkeit:

1989-1990: Arzt im Praktikum, Krankenhaus Sachsenhausen
Abteilung für Allgemein- und Unfallchirurgie
(Dr. med. Ingrid Hasselbach-Diedrich, Dr. med. M. Krakovic),
Frankfurt/Main

1990-1991: Assistenzarzt; Krankenhaus Sachsenhausen
Abteilung für Allgemein-und Unfallchirurgie, Frankfurt/Main.

seit 1/12/1993: Klinik für Allgemein-, Viszeral-und Transplantationschirurgie
(Direktor: Prof. Dr. med. P. Neuhaus)
Charité-Standort Virchow Klinikum, Humboldt Universität Berlin

4/99: Facharztanerkennung: Chirurgie

Postdoktoranden Stipendium:

1991-1993: Surgical Research Laboratory, Harvard Medical School and
Department of Surgery (Direktor: Prof. Dr. med. N.L. Tilney)
Brigham and Women's Hospital
Boston, Ma. U.S.A.

Auszeichnungen:

1989 Inaugural Dissertation: Summa cum Laude
Johann Wolfgang Goethe Universität, Frankfurt/Main

1994 Bester wissenschaftlicher Beitrag,
Internationaler Transplantationskongress, Kyoto

1995 Fritz-Lindner-Forumpreis der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie

1997 Forschungspreis der Deutschen Transplantationsgesellschaft

Drittmittel:

1991-1993	DFG Postdoktoranden Stipendium (Tu 63/1-1)
1994-1996	DFG-Sachbeihilfe Tu 63/3-1
	Fördersumme: 180.000,-DM
1997-1999	DFG-Sachbeihilfe Tu 63/3-2
	Fördersumme: 203.000,-DM
1999-2002	DFG-Sachbeihilfe Tu 63/5-1
	Fördersumme: 320.000,-DM + 160.000,- DM für das in Aussicht gestellte 3. Jahr
2000-2002	DFG-Sachbeihilfe Tu 63/6-1
	Fördersumme: 246.140,-DM
1995-1998:	Nato Collaborative Research Grant
	Fördersumme: 15.000,-DM
ab 1996:	Industriestipendien
	Fördersumme: 315.000,-DM
	Gesamt-Fördersumme: 1.574.140,-DM

Wissenschaftliche Gutachtertätigkeit:

seit 1998	Transplantation
	Abstraktauswahl American Society of Transplantation

Mitgliedschaften:

seit 1994:	Deutsche Gesellschaft für Chirurgie
seit 1999:	Deutsche Gesellschaft für Viszeralchirurgie
seit 1999:	Berliner Chirurgische Gesellschaft seit 1994
seit 1995:	Internationale Transplantationsgesellschaft
seit 1997:	American Society of Transplantation
seit 1995:	Europäische Gesellschaft für Organtransplantationen

Berlin, im Oktober 2000

Dr. med. S.G. Tullius