

J. Kaden<sup>1</sup>, G. May<sup>1</sup>, A. Völp<sup>3</sup>,  
C. Wesslau<sup>3</sup> \*\*

## Effektivität der singulären intraoperativen Hochdosis-Induktion mit Anti-T-Lymphozyten-Globulin. Eine monozentrische Analyse der Nierentransplantationsergebnisse zwischen 1987 und 2004\*

**Hintergrund:** Etwa 90 Jahre nach Beginn der Ära der polyklonalen antilymphozytären Antikörper, eingeleitet durch die Arbeiten von Metchnikoff (1899), und 24 Jahre nach deren erster klinischen Anwendung durch Starzl et al. (1966) begannen wir im Jahr 1990 mit der intraoperativen ATG-Fresenius (ATG-F)- Hochdosis-Induktion als Zusatz zur Triple-Drug-Therapie (TDT) mit Steroiden, Azathioprin und Cyclosporin. Damit wurde ein neues prophylaktisches Konzept zur Verbesserung der Transplantationsergebnisse eingeführt.

**Material und Methoden:** Die vorliegende retrospektive Analyse repräsentiert die Daten aller 778 Rezipienten, denen zwischen 1987 und 1998 zum ersten Mal Nieren Verstorbener übertragen wurden. Dabei werden die Transplantationsergebnisse von einer Patientengruppe mit alleiniger TDT (*1. Gruppe*: n=216, nur TDT, kein ATG-F) mit denen zwei anderer Patientengruppen mit unterschiedlichem ATG-Fresenius-Induktionsschema zusätzlich zur TDT verglichen (*2. Gruppe*: Mehrfachdosis-Induktion, n=78, TDT + 3 mg/kg Körpergewicht [KG] ATG-F an 7-8 Tagen, die 1. Dosis intraoperativ; *3. Gruppe*: Hochdosis-Induktion, n=484, TDT + 9 mg/kg KG ATG-F intraoperativ).

**Ergebnisse:** Das Patientenüberleben betrug am Ende des individuellen Beobachtungszeitraums 67,1% (nur TDT), 80,8% (ATG-F-Mehrfachdosierung) und 79,1% (ATG-F-Hochdosis; Gruppen 3 und 2 vs. Gruppe 1: p=0,001 bzw. p=0,023), wohingegen ein Vergleich der Ergebnisse der Kaplan-Meier-Überlebensanalyse für die ersten 10 Jahre nach Transplantation keine signifikanten Vorteile für ATG-F ergab. Das Transplantatüberleben (bei Wertung der Todesfälle als Funktionsende) betrug am Ende des individuellen Beobachtungszeitraumes 36,6% (nur TDT), 52,6% (ATG-F-Mehrfachdosierung) und 62,8% (ATG-F-Hochdosis; Gruppen 3 und 2 vs. Gruppe 1: p<0,001 bzw. p=0,014). Ein Vergleich der Ergebnisse der Überlebenskurven ergab sowohl bei Wertung der Todesfälle als Funktionsende als auch bei Zensierung signifikante Vorteile der Hochdosis-Induktion im Vergleich zur alleinigen TDT für das Langzeitüberleben. Auch bei den präsensibilisierten Rezipienten gab es signifikante Unterschiede des Langzeittransplantatüberlebens zugunsten der Hochdosis-Induktion im Vergleich zur TDT-Gruppe. Insgesamt 69% der Patienten beider ATG-F-Gruppen wiesen keine Rejektionen auf, hingegen nur 56% der Patienten der TDT-Gruppe (Gruppen 3 und 2 vs. Gruppe 1: p=0,001 bzw. p=0,018).

**Schlussfolgerung:** Die Analyse der Daten von 778 in einem Zentrum ausgeführten Nierentransplantationen zeigt eindeutig, dass ATG-F sowohl sicher als auch effektiv ist. Insbesondere die intraoperative Hochdosis-ATG-F-Induktion (9 mg/kg KG) als Zusatz zur TDT verbesserte das Patientenüberleben und verminderte signifikant die Risiken von Transplantatversagen (p=0,001) und Abstoßungskrisen (p=0,001) und kann deshalb empfohlen werden. Die verantwortlichen Wirkungsmechanismen werden ausführlich diskutiert.

**Schlüsselwörter:** Nierentransplantation, Induktion, ATG-Fresenius, Patientenüberleben, Transplantatüberleben, Rejektion, Sofortfunktion

<sup>1</sup>Nierentransplantationszentrum, ehemals Städtisches Krankenhaus im Friedrichshain, Berlin

<sup>2</sup>Psy Consult Scientific Services, Frankfurt

<sup>3</sup>Deutsche Stiftung Organtransplantation, Region Nord-Ost, Berlin

Kaden J, May G, Völp A, Wesslau C (2010) Effektivität der singulären intraoperativen Hochdosis-Induktion mit Anti-T-Lymphozyten-Globulin. Eine monozentrische Analyse der Nierentransplantationsergebnisse zwischen 1987 und 2004. *Tx Med* 22: 155-169

\*Die vorliegenden Daten wurden in Teilen auf dem 14. Kongress der Europäischen Gesellschaft für Organtransplantation in Paris, 30.08.-02.09. 2009, und der 18. Jahrestagung der Deutschen Transplantationsgesellschaft in Berlin, 29.-31.10.2009, vorgestellt.

\*\* Die Autoren bedanken sich bei der Fresenius Biotech GmbH, Gräfelfing, Deutschland, für die finanzielle Unterstützung bei der statistischen Analyse der Patientendaten.

### **Efficacy of Single High-dose Intra-operative Anti-T-lymphocyte Globulin Induction: A Single Centre Analysis of Results after Kidney Transplantation between 1987 and 2004**

**Aim/Background:** About 90 years after beginning of the era of polyclonal anti-lymphocyte antibodies, initiated by the work of Metchnikoff (1899) and 24 years after their first clinical testing by Starzl et al. (1966), we introduced in 1990 the intra-operative high-dose ATG-Fresenius (ATG-F) induction in addition to the triple-drug therapy (TDT) consisting of steroids, azathioprine and cyclosporine. This was a new prophylactic option to improve results after kidney transplantation.

**Material/Methods:** This retrospective analysis presents data of all 778 first kidney transplantations from deceased donors, performed between 1987 and 1998. The results of standard TDT alone (1<sup>st</sup> group: TDT alone, n=216) were compared with those of two different ATG-F inductions (2<sup>nd</sup> group: n=78, 3 mg/kg body weight [bw] ATG-F on 7 or 8 consecutive days as multiple-dose starting intra-operatively,) 3<sup>rd</sup> group: n=484, 9 mg/kg bw ATG-F as single high-dose intra-operatively).

**Results:** At the individual end of follow-up patient survival was 67.1% (1<sup>st</sup> group), 80.8% (2<sup>nd</sup> group) and 79.1% (3<sup>rd</sup> group) [groups 3 and 2 vs. 1: p=0.001 and p=0.023], respectively, whereas a comparison of the results of the Kaplan-Meier survival analysis did not show significant advantages for ATG-F during the first ten years. Graft survival with deceased patients counted as graft failures was 36.6% (1<sup>st</sup> group), 52.6% (2<sup>nd</sup> group) and 62.8% (3<sup>rd</sup> group) [groups 3 and 2 vs. 1: p<0.001 and p=0.014] at the end of follow-up. When comparing long-term kidney graft survival rates in the intra-operative single high-dose ATG-F induction groups with those of the group receiving TDT alone, Kaplan-Meier survival analysis revealed in a significant prolongation of graft survival. This result was independent of whether the analysis was performed counting deceased patient with a functioning graft as graft failures or censoring deceased patients with a functioning graft. In addition, significant differences regarding long-term graft survival in favour of ATG-F were also observed in pre-sensitized patients, in particular after single high-dose ATG-F induction. A total of 69% of the patients in the two cohorts receiving ATG-F were free of any rejection episodes compared to 56% of patients receiving only TDT (groups 1 and 2 vs. 3: p=0.001 and p=0.018).

**Conclusion:** The analysis of 778 renal transplantations performed during 1987-1998 in one hospital clearly shows that ATG-F induction is safe and efficacious. In particular a single intra-operative infusion of 9 mg/kg bw ATG-F (high-dose) in addition to TDT was superior to TDT alone, by improving patient survival and in reducing the risk of permanent graft failure (p=0.001) and transplant rejections (p=0.001) and therefore can be recommended. The mechanisms of action were discussed in detail.

**Key words:** kidney transplantation, induction, ATG-Fresenius, patient survival, graft survival, rejection, immediate graft function

bei den Meerschweinchen bzw. Ratten. Der entscheidende Durchbruch wurde erzielt, nachdem die Lymphozyten als Träger der zellvermittelten Immunität und damit auch der Transplantatabstoßung identifiziert werden konnten [4, 5]. In tierexperimentellen Modellen wurde nachgewiesen, dass mittels Lymphozytendepletion eine signifikante Verlängerung der Überlebenszeit von Allotransplantaten erreicht werden kann. Von den damals dafür angewandten Methoden wie Ductus-thoracicus-Drainage [6,7], Blutbestrahlung mit Betastrahlern [8] und Gabe von Antilymphozytenserum (ALS) [6,9,10] hat jedoch nur letztere einen entscheidenden Platz in der modernen Immunsuppression gewonnen. Mit dem Nachweis einer kompletten Verhinderung der Entwicklung einer zellvermittelten Immunität durch die ALS-Gabe einen Tag vor Transplantation von Rattennieren zeigten Biesecker et al. [11] eine Möglichkeit zur Toleranzinduktion in adulten Tieren.

#### *Der Schritt in die Klinik*

Bereits im Jahr 1966 erfolgte durch Starzl et al. [12] der klinische Einsatz eines Pferd-anti-Human-Lymphozyten-Globulins bei 20 Nierentransplantatempfängern (davon 19 mit blutsverwandten Spendern) zusätzlich zur Therapie mit Azathioprin und Prednisolon. Das intramuskulär verabreichte Präparat wurde täglich im Zeitraum von 5 bis 6 Tagen vor der Transplantation und danach in sukzessiv größer werdenden Intervallen bis zu 4 Monaten nach der Transplantation gegeben. Die detaillierte Analyse der Patientendaten führte zu der Schlussfolgerung, dass der adjuvante Gebrauch von ALS die Frühphase nach Nierentransplantation verbessert, ohne das Risiko einer Serumkrankheit exzessiv zu erhöhen.

Mit dieser Pionierarbeit begannen aber auch die Diskussionen über die zu immunisierenden Tierarten, die wirksamen Immunglobuline, die Korrelation zwischen In-vitro- und In-vivo-Aktivitäten, die Antigenquellen zur Immunisierung, die Mechanismen der Immunsuppression durch ALS, die Applikationsformen, die Applikationsintervalle und die erforderliche Dosierung (Übers. b. 13, 14). Diese Problemkreise waren auch 1972 wesentliche Diskussionsinhalte eines „ALG Therapy and Stan-

## **Historie**

Vor nunmehr 110 Jahren berichtete Metchnikoff über die leukozytotoxische Wirkung von Antiseren, die durch Immunisierung von Meerschweinchen mit Lymphknoten- oder Milzzellen von Ratten und Kaninchen gewonnen wur-

den [1] und leitete damit die Ära polyclonaler antilymphozytärer Sera ein. Nachfolgend stellten u.a. Chew und Lawrence [2] sowie Cruickshank [3] Antiseren gegen Meerschweinchen-Lymphozyten bzw. Ratten-Lymphozyten her und erzielten nach täglicher Injektion deutliche Lymphozytopenien

andardization Workshop“ [15]. Pichlmayr [16] umriss damals folgende Hauptprobleme: Indikation (Gabe nur bei Leichen- oder auch bei Lebendspendern, in Abhängigkeit vom Grad der Histokompatibilität, zur Prophylaxe oder nur bei Rejektionen), Applikation (Dosierung, Timing und Dauer), Effektivität (Rejektionsfrequenz, Transplantationsergebnisse mit und ohne ALG) und Nebeneffekte.

In den nachfolgenden Jahren kam es bei zunehmender Verfügbarkeit kommerziell erhältlicher **Antiseren von Pferden und von Kaninchen** (Tab. 1) zu einer breiten klinischen Anwendung. Die **zur Immunisierung verwendeten Zellen** (Thymozyten, kultivierte Lymphozyten, Jurkat-Lymphoblasten) lieferten in Verbindung mit dem Serumspender (Pferd oder Kaninchen) und dem Aufbereitungsverfahren Gründe für differierende Ergebnisse. Trotz vieler unbeantworteter Fragen zu den Wirkmechanismen wurden diese polyklonalen antilymphozytären Globuline für nahezu 30 Jahre in vielen Zentren sowohl zur Rejektionstherapie als auch zur Rejektionsprophylaxe mit Erfolg eingesetzt, wobei letztere die postoperative Applikation über 1 bis 3 Wochen beinhaltete. Insbesondere die ansteigenden Infektionsraten im Zusammenhang mit einer 3-Wochen-Prophylaxe führten schon relativ zeitig zur Empfehlung kürzerer Prophylaxezeiträume [17].

Nach den bahnbrechenden Arbeiten von Köhler und Milstein [18] wurden monoklonale Antikörper gegen eine Reihe verschiedener lymphozytärer Antigene in der experimentellen Forschung wie auch klinischen Praxis erprobt. Der erste zur immunsuppressiven Therapie beim Menschen zugelassene **monoklonale Antikörper** war *Muronomab-CD3* [19], der auch in unserem Zentrum zur Behandlung Antikörper-vermittelter Rejektionskrisen eingesetzt wurde [20]. Danach fanden vor allem monoklonale Antikörper gegen den Interleukin-2-Rezeptor und gegen CD52 eine zunehmende klinische Verbreitung (Tab. 2). Die monoklonalen Antikörper konnten trotz einer Vielzahl positiver Berichte und dem initialen Argument einer nun möglichen spezifischen Immunsuppression die großen Erwartungen bislang nicht erfüllen. Dies mag ein Grund für die seit Jahren zu beobachtende Renaissance der durch Immunisierung von Kaninchen gewonnenen, polyklonalen, antilymphozytären Antikörper sein.

Tab. 1: Häufig verwendete polyklonale antilymphozytäre Globuline

Name	Serumspender	Antigen	Hersteller und Bemerkungen
Pressimmun	Pferd	Lymphozyten (Kultur)	Behringwerke AG, Marburg, Deutschland, nicht mehr im Handel
ATGAM	Pferd	Thymozyten	The Upjohn Company, Kalamazoo, Michigan, USA
Lymphoglobulin	Pferd	Thymozyten	ehemals Institut Mérieux, Lyon, Frankreich; aktuell Genzyme (s.u.)
Tecelag	Kaninchen	Thymozyten	Biotest Pharma, Dreieich, Deutschland, Weiterentwicklung des sog. Stanford-ATG
Thymoglobulin	Kaninchen	Thymozyten	ehem. Institut Mérieux, danach Sangstat, aktuell Genzyme Corporation, Cambridge, MA, USA
ATG-Fresenius	Kaninchen	Jurkat-JM, Lymphoblasten (konstante T-Zell-Linie)	Fresenius Biotech GmbH, Gräfelfing, Deutschland

Tab. 2: In der Transplantationsmedizin häufig verwendete monoklonale Antikörper

Name	Handelsname	Zielantigen	Hersteller und Bemerkung
<i>Muronomab-CD3</i>	Orthoclone OKT3	CD3	Cilag GmbH, Sulzbach, Deutschland, erster zur immunsuppressiven Therapie beim Menschen zugelassener monoklonaler Antikörper
<i>Basiliximab</i>	Simulect	IL-2R	Novartis Pharmaceutical Corp., Basel, Schweiz, chimärer (Maus/Mensch) monoklonaler IgG <sub>1κ</sub> -Antikörper gegen die 55 kD α-Kette des IL-2R der T-Zellen
<i>Daclizumab</i>	Zenapax	IL-2R	Roche, NJ, USA, rekombinanter humanisierter monoklonaler IgG1-Antikörper gegen die α-Kette des IL-2R unter Beibehaltung der Antigenbindenden Region des monoklonalen Mäuse-Antikörpers; im Jahr 2008 vom Markt genommen
<i>Alemtuzumab</i>	Campath-1H	CD52	Genzyme, Cambridge, MA, USA, rekombinanter, depletierender, humanisierter, monoklonaler Antikörper gegen das Zelloberflächen-Glykoprotein CD52 an T- und B-Zellen, Monozyten und dendritischen Zellen [21]

Wesentliche Argumente dafür sind wiederum die polyvalente Natur der Zell-Zell-Wechselwirkungen wie auch die dem Immunsystem inhärente Redun-

danz. Polyklonale Antikörper, die mit vielen Epitopen reagieren, scheinen deshalb vielversprechend für eine Induktionstherapie zu sein.

## Ergebnisse aus dem NTZ Berlin-Friedrichshain

Eine Zentrumsanalyse der Daten zwischen 1987 und 1998

In unserem Zentrum erfolgte der Einsatz des polyklonalen ATG-Fresenius (ATG-F) zuerst als Mehrfachdosis-Induktion hauptsächlich bei präsensibilisierten Rezipienten zwischen Mai 1988 und Februar 1991 zusätzlich zur Triple-Drug-Therapie (TDT) mit Steroiden, Azathioprin und Cyclosporin. Die singuläre, intraoperative ATG-F-Hochdosis-Induktion in Kombination mit einer TDT wurde seit Februar 1990 zuerst bei nicht präsensibilisierten Rezipienten und ab März 1991 bei allen Patienten (d.h. unabhängig vom Präsensibilisierungszustand) angewendet. Der vorliegende Report beinhaltet die Analyse aller Empfänger (n=778) primärer Nierentransplantate von Verstorbenen zwischen Januar 1987 und September 1998, die entweder nur mit einer TDT oder in Kombination mit einer ATG-F-Induktion behandelt wurden.

## Patienten und Methoden

### Zweck der Untersuchung

Der Zweck dieser retrospektiven Analyse war der Vergleich der therapeutischen Wirksamkeiten der TDT allein bzw. der TDT in Kombination mit einer ATG-F-Mehrfachinduktion oder einer ATG-F-Hochdosisinduktion bei Empfängern primärer Nierentransplantate. ATG-F ist ein Anti-Human-T-Lymphozyten-Immunglobulin, das durch die Immunisierung von Kaninchen mit Zellen der Jurkat-Linie erhalten wird. Bis Februar 1995 wurde ein „neutrales“ ATG-F verwendet, ab Oktober 1995 stand ein durch pH-Senkung stabilisiertes „saureres“ ATG-F (ATG-Fresenius S) zur Verfügung.

### Patienten

In die Analyse wurden insgesamt 778 Rezipienten eingeschlossen, die sich zwischen Januar 1987 und September 1998 in unserem Zentrum erstmalig einer Nierentransplantation unterzogen. Einer wissenschaftlichen Evaluation ihrer Daten haben alle Patienten vor der Transplantation schriftlich zugestimmt.

Die Dokumentation der Follow-up-Daten der Patienten wurde am 3. März 2004 abgeschlossen.

In nicht randomisierter Weise erhielten insgesamt 216 Patienten eine alleinige TDT (1. Gruppe), 78 Patienten eine TDT mit ATG-F-Mehrfachdosisinduktion (2. Gruppe) und 484 Patienten eine TDT mit singulärer ATG-F-Hochdosisinduktion (3. Gruppe). Die Tabelle 3 enthält alle relevanten Patientendaten. Die mittlere Beobachtungsdauer (Zeitspanne zwischen Transplantation und letztem Patientenkontakt) betrug in der 1. Gruppe 94,4 Monate (Interquartilbereich: 23-157), in der 2. Gruppe 100,3 Monate (Interquartilbereich: 51-145) und in der 3. Gruppe 78,6 Monate (Interquartilbereich: 52-119). Bei insgesamt 258 Patienten (33,2%) betrug die Beobachtungsdauer mehr als 10 Jahre. Die mittlere kalte Ischämiezeit (KIZ) rangierte zwischen 17,4 Stunden (3. Gruppe) und 23,4 Stunden (1. Gruppe), wobei die KIZ bei ¼ aller Transplantate in jeder Gruppe 25 Stunden überstieg.

Tabelle 3 zeigt deutliche Unterschiede zwischen den drei Gruppen im Hinblick auf den prozentualen Anteil der Patienten mit panelreaktiven lymphozytotoxischen Antikörpern (PRA). Ein Wert

≥5% diente zur Unterscheidung zwischen präsensibilisierten und nicht präsensibilisierten Patienten. Unter der Vorstellung, dass PRA-positive Patienten ein höheres immunologisches Risiko haben als PRA-negative, erhielten erstere zwischen 1988-1991 bevorzugt eine ATG-F-Mehrfachdosis-Induktion. Ein möglicher Einfluss der differierenden Transplantationszeiträume (s. Tab. 3, Zeitpunkt der ersten und letzten Transplantation in der jeweiligen Gruppe) auf die Transplantationsergebnisse sollte mit Subgruppenanalysen überprüft werden. Dafür wurde der Zeitraum 1988-1991 gewählt, in dem alle drei Therapieschemata parallel angewendet wurden. Die entsprechenden Patientendaten können Tabelle 4 entnommen werden.

### Immunsuppression

#### Triple-Drug-Therapie (TDT)

Alle Patienten erhielten als Standardimmunsuppression eine Dreifachkombination, bestehend aus Steroiden, Cyclosporin (Cs; bei histologisch nachgewiesener Cs-Toxizität oder chronischer Verschlechterung der Transplantatfunktion erfolgte bei einigen Patienten im

Tab. 3: Rezipientendaten (alle Ersttransplantationen der 3 Therapiegruppen zwischen 1987-1998, absolute und relative Häufigkeiten oder Mittelwert ± Standardabweichung und Streubreite)

	Therapiegruppen			
	TDT	TDT+ATG-F Mehrfach- dosis	TDT+ATG-F Hochdosis	Total
Anzahl (n)	216	78	484	778
Datum der ersten Tx	07.01.1987	18.05.1988	07.02.1990	07.01.1987
Datum der letzten Tx	18.03.1995	21.02.1991	23.09.1998	23.09.1998
Beobachtungszeitraum				
Monate: x ± s	94,4 ± 66,3	100,3 ± 58,8	78,6 ± 45,7	85,1 ± 54,1
Median	104,0	135,4	80,0	90,8
Geschlecht: Männer	135 (62,5%)	36 (46,2%)	301 (62,2%)	472 (60,7%)
Frauen	81 (37,5%)	42 (53,8%)	183 (37,8%)	306 (39,3%)
Alter (Jahre): x ± s	40 ± 13	40 ± 12	44 ± 12	42 ± 12
Min - max	(10 - 69)	(12 - 58)	(15 - 70)	(10 - 70)
Kalte Ischämiezeit				
Stunden: x ± s	23,4 ± 4,6	21,3 ± 6,6	17,4 ± 7,6	19,4 ± 7,3
Min - max	(9,7 - 36,0)	(0,7 - 35,5)	(1,1 - 42,0)	(0,7 - 42,0)
Panelzytotoxizität ≥5%	56 (25,9%)	70 (89,7%)	87 (18,0%)	213 (27,4%)

Abkürzungen: TDT = Triple-Drug-Therapie, ATG-F = ATG-Fresenius, Tx = Transplantation

Tab. 4: Rezipientendaten (alle Ersttransplantationen der 3 Therapiegruppen zwischen 1988-1991, absolute und relative Häufigkeiten oder Mittelwert ± Standardabweichung und Streubreite)

	Therapiegruppen			
	TDT	TDT+ATG-F Mehrfach- dosis	TDT+ATG-F Hochdosis	Total
Anzahl (n)	160	78	135	373
Beobachtungszeit- raum Monate: x ± s Median	96,9 ± 65,4 116,9	100,3 ± 58,8 135,4	104,4 ± 502 130,4	100,4 ± 58,8 129,5
Geschlecht: Männer Frauen	100 (62,5%) 60 (37,5%)	36 (46,2%) 42 (53,8%)	88 (65,2%) 47 (34,8%)	224 (60,1%) 149 (39,9%)
Alter (Jahre): x ± s Min - max	41 ± 12 (10- 64)	40 ± 12 (12 - 58)	41 ± 11 (17 - 62)	41 ± 12 (10 - 64)
Kalte Ischämiezeit Stunden: x ± s Min - max	23,1 ± 4,3 (12 - 36)	21,3 ± 6,6 (0,7 - 35,5)	20,0 ± 8,1 (1,1 - 42)	21,6 ± 6,5 (0,7 - 42)
Panelzytotoxizität ≥5%	37 (23,1%)	70 (89,7%)	22 (16,3%)	129 (34,6%)

Abkürzungen: TDT = Triple-Drug-Therapie, ATG-F = ATG-Fresenius, Tx = Transplantation

Verlauf die Umsetzung auf Tacrolimus) und Azathioprin (bei einigen Patienten erfolgte im Verlauf die Umsetzung auf Mycophenolat mofetil; Indikationen waren Leukozytopenien und Transaminasenanstiege). Kein Patient bekam jedoch prophylaktisch monoklonale oder polyklonale antilymphozytäre Globuline.

Die Patienten erhielten 4 mg/kg KG Azathioprin in ihrer Dialyseeinheit unmittelbar vor Abruf zur Transplantation. Im Zentrum bekamen sie in Vorbereitung zur Transplantation 500 mg Methylprednisolon (MP). Postoperativ erhielten die Rezipienten 40 mg MP für 7 Tage, danach 35 mg Prednisolon für 14 Tage, gefolgt von einer weiteren schrittweisen Reduzierung auf 10-15 mg/d. Die orale Cs-Gabe wurde innerhalb von 24 Stunden nach Transplantation begonnen. Während der ersten postoperativen Woche wurde ein Cs-Talspiegel von 100 ng/ml und danach von 200 ng/ml angestrebt. Die postoperative orale Azathioprin-Dosis betrug 1 mg/kg/d.

*Mehrfachdosis-ATG-Fresenius-Induktion (zusätzlich zur TDT)*

Alle Patienten dieser Gruppe erhielten 7 oder 8 ATG-F-Infusionen an konsekutiven Tagen zusätzlich zur TDT, wobei die erste Infusion intraoperativ etwa 1

Stunde nach 500 mg MP gegeben wurde. Die übliche ATG-F-Dosierung pro Infusion betrug 3 mg/kg KG. Bei auftretenden T-Lymphozytopenien < 100/µl wurde die ATG-F-Dosis auf 1.5 mg/kg KG reduziert, um die angestrebte T-Zellzahl zwischen 50 - 150 /µl einzustellen. Die Bestimmung der relativen T-Zellzahl (CD3+) erfolgte mittels Flowzytometrie (FACScan, Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland) unter Verwendung monoklonaler Antikörper der Firmen Dianova (Hamburg, Deutschland) und (DPC Biermann, Bad Nauheim, Deutschland).

*Singuläre Hochdosis-ATG-Fresenius-Induktion (zusätzlich zur TDT)*

Alle Patienten dieser Gruppe erhielten 9 mg/kg KG ATG-F im Operationssaal nach Einleitung der Anästhesie. ATG-F wurde in 250 ml physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und intravenös über einen zentralen Venenkatheter gegeben (Dauer der Infusion: ~ 60 min, Beendigung noch vor Freigabe der Anastomosen). Etwa 1 Stunde vor der ATG-F-Gabe erhielten auch diese Patienten 500 mg MP. Unter Anästhesiebedingungen im Operationssaal und der durch die MP-Gabe reduzierten Zytokinfreisetzung kam es zu keinen ernsthaften Nebenreaktionen (nicht selten wurde ein vermehrter Speichelfluss be-

obachtet). Bei keinem Patienten musste deshalb die ATG-F-Infusion abgebrochen werden.

*Rejektionskrisen*

Für die Diagnose einer Abstoßungskrise wurden folgende klinische Zeichen und Laborparameter herangezogen: Vergrößerung und Schmerzhaftigkeit des Transplantates, Anstieg von Serumcreatinin, Harnstoff und C-reaktivem Protein, Auftreten von Oligurie, Albuminurie, Immunglobulinurie und sonographischer Veränderungen sowie Nachweis einer Immunaktivierung in der Feinnadelaspirationsbiopsie [22]. Die primäre Behandlung einer Rejektionskrise bestand in der Gabe von 5 mg/kg KG MP an 5 konsekutiven Tagen. Mittels Stanzbiopsien histopathologisch gesicherte, MP-resistente Rejektionskrisen wurden mit ATG-F für 8-10 Tage behandelt (angestrebte T-Zellwerte: 50 – 150/µl). OKT3 (10 Tage, 2,5 mg/d, Cilag, Sulzbach, Deutschland) wurde bei Nichtansprechen der beiden Vortherapien oder auch als primäre Therapie vaskulärer Rejektionen angewendet. Die diagnostische Sicherung erfolgte sowohl histopathologisch als auch durch den Nachweis donorreaktiver lymphozytotoxischer komplexer bindender Antikörper unter Verwendung kryokonservierter Spendermilzlymphozyten als Targetzellen [23].

*Statistik*

Der Vergleich der unterschiedlichen Behandlungen hinsichtlich der Zeitspannen zwischen der Nierentransplantation einerseits und dem Transplantatüberleben, dem Patientenüberleben und der ersten Transplantatabstoßung andererseits wurde mittels Kaplan-Meier-Analysen und hierauf basierenden Log-Rank-Tests durchgeführt, mit denen deskriptive p-Werte ermittelt wurden. Zusätzlich wurden auf der Grundlage der Kaplan-Meier-Schätzer Querschnittsvergleiche der ereignisfreien Überlebensraten der Kohorten nach einem, nach drei sowie nach fünf Jahren vorgenommen. Die p-Werte für die paarweisen Vergleiche der Kohorten wurden mit t-Tests berechnet, wobei zur Ermittlung der Standardfehler die Formel von Greenwood zur Anwendung kam.

Die Zeitspanne für die Survival-Analysen war auf 10 Jahre (Patienten- und Transplantat-Überleben) bzw. auf die ersten 120 Tage (erste Rejektionsepisode) nach Transplantation limitiert. Nach Ablauf dieser Zeiträume fanden sich im Datensatz keine Ereignisse mehr und die bis dahin ereignisfreien Patienten wurden zensiert.

Alle berichteten p-Werte sind zweiseitig. p-Werte <0,05 wurden ohne Adjustierung als deskriptiv signifikant angesehen.

## Ergebnisse

### Patientenüberleben

Während die Kaplan-Meier-Survivalanalyse (Abb. 1) nach einem Jahr nur minimale Gruppendifferenzen hinsichtlich der Überlebenswahrscheinlichkeit zeigten, nahmen diese Unterschiede zugunsten der zwei ATG-F-Induktionsgruppen in den nachfolgenden Jahren deutlich zu. Die Tab. 5 weist weiterhin aus, dass 383 Patienten in der ATG-F-Hochdosisgruppe (79,1%), 63 Patienten (80,8%) in der ATG-F-Mehrfachdosisgruppe und 145 (67,1%) in der alleinigen TDT-Gruppe am individuellen Beobachtungsende noch am Leben waren. Der prozentuale Anteil der überlebenden Patienten war somit in den beiden ATG-F-Induktionsgruppen signifikant größer als in der Patientengruppe mit alleiniger TDT, während der Unterschied zwischen beiden ATG-F-Gruppen statistisch zu vernachlässigen ist. Ein Vergleich der Ergebnisse der Survivalanalyse für die ersten 10 Jahre nach Transplantation (Tab.5, Abb. 3) zeigt hingegen weniger ausgeprägte Vorteile für ATG-F (Kaplan-Meier und Log-Rank-Test). Die Unterschiede zwischen den beiden gewählten Analysetypen können durch unterschiedliche Anteile von zensierten Patienten in den Behandlungsgruppen dieser retrospektiven Untersuchung von Routinedaten erklärt werden, wo im Vorfeld keine Bindungsperioden definiert wurden (der Datensatz umfasst in der ATG-F-Hochdosis-Gruppe Patienten, denen bis 1998 Nieren transplantiert wurden; daher ist der Anteil der Personen, die bei Abschluss der Datensammlung Anfang März 2004 das für die Analyse definierte, zehnjährige Beobachtungsintervall noch nicht vollendet hatten und die deswegen zensiert werden mussten, in die-

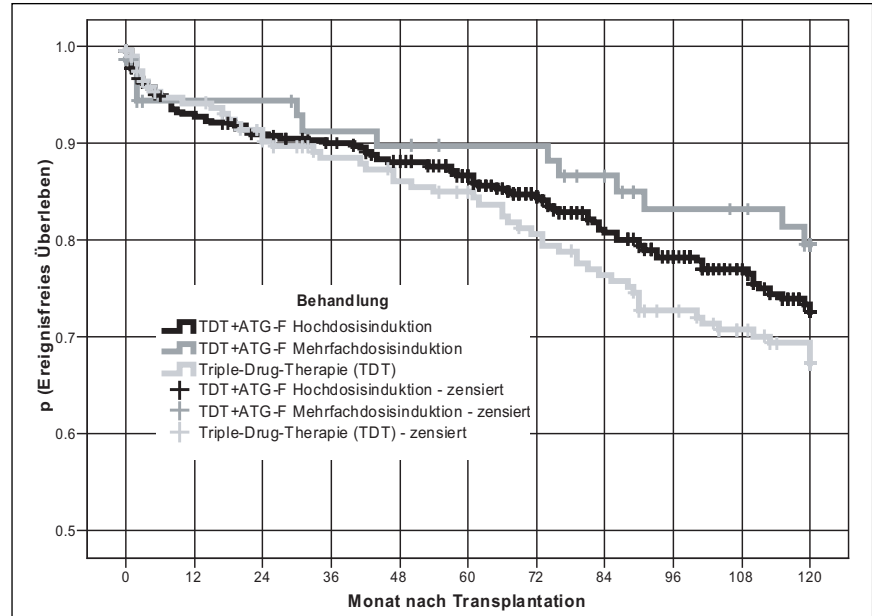


Abb. 1: Patientenüberleben in den 3 untersuchten Therapiegruppen (Kaplan-Meier-Survivalanalyse unter Einschluss aller Ersttransplantationen zwischen 1987 und 1998)

Log-Rank-Test:

Hochdosis-Induktion versus TDT:  $p=0,221$

Mehrfachdosis-Induktion versus TDT:  $p=0,083$

Hochdosis-Induktion versus Mehrfachdosis-Induktion:  $p=0,28$

Tab. 5: Patientenüberleben – Kaplan-Meier-Schätzer mit Standardfehler und p-Werten des t-Tests (am Ende der postoperativen Jahre 1, 5 und 10) sowie Anzahl (%) der Patienten ohne Ereignis bis zum individuellen Ende des Beobachtungszeitraumes (mit p-Wert des  $\chi^2$ -Test)

	Kaplan-Meier-Schätzer / % Überleben			p		
	TDT + ATG - Hochdosis n = 484	TDT + ATG - Mehrfachdosis n = 78	TDT n = 216	Hochdosis versus TDT	Mehrfachdosis versus TDT	Hochdosis versus Mehrfachdosis
1. Jahr	0,928 ± 0,012	0,944 ± 0,027	0,942 ± 0,017	0,501	0,950	0,588
5. Jahr	0,867 ± 0,016	0,898 ± 0,037	0,850 ± 0,027	0,588	0,296	0,442
10. Jahr	0,726 ± 0,026	0,795 ± 0,051	0,672 ± 0,037	0,233	0,052	0,299
Individ. Ende Bzr.*	383 (79,1%)	63 (80,8%)	145 (67,1%)	0,001	0,023	0,740

\*individuelles Ende des Beobachtungszeitraumes

ser Gruppe naturgemäß höher). Allerdings zeigen unsere Analysen auch, dass diese Konfundierung zwischen Behandlungsart und Zensierung zu keinem wesentlichen Bias geführt hat: Bei Beschränkung der Betrachtung auf die in den Jahren 1988 bis 1991 durchgeführten Transplantationen lagen die Überle-

bensraten am individuellen Beobachtungsende für die ATG-F-Hochdosis-Gruppe bei 77,8% (105 von 135 Patienten) und für TDT ohne ATG-F bei 68,1% (109 von 160 Patienten). Allerdings ist das wegen der geringeren Fallzahl nicht statistisch signifikant.

Tab. 6: Patientenüberleben am Ende des individuellen Beobachtungszeitraumes in Abhängigkeit vom präoperativen Nachweis panelreaktiver Antikörper (PRA). Einchluss aller Patienten nach Ersttransplantation zwischen 1987 und 1998.

	Behandlung							
	TDT		TDT+ATG-F Mehrfachdosis		TDT+ATG-F Hochdosis		Gesamt	
	N = 216		N = 78		N = 484		N = 778	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<b>PRA Ø</b>								
lebend	104	65,0	6	75,0	313	78,8	423	74,9
verstorben	56	35,0	2	25,0	84	21,2	142	25,1
<b>PRA +</b>								
lebend	41	73,2	57	81,4	70	80,5	168	78,9
verstorben	15	26,8	13	18,6	17	19,5	45	21,1
<b>Gesamt</b>								
lebend	145	67,1	63	80,8	383	79,1	591	76,0
verstorben	71	32,9	15	19,2	101	20,9	187	24,0

Abkürzungen: PRA Ø= PRA negativ  
TDT = Triple-Drug-Therapie, ATG-F = ATG-Fresenius

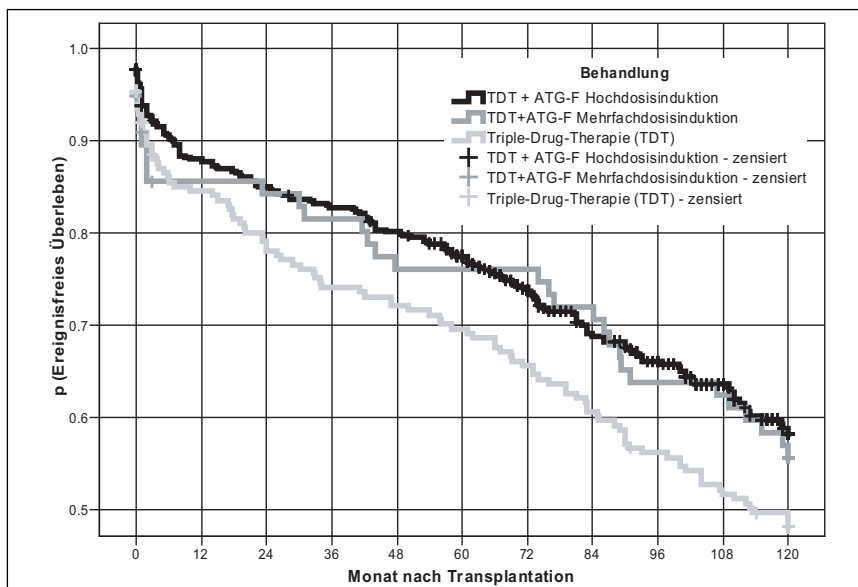


Abb. 2: Transplantatüberleben in den 3 untersuchten Therapiegruppen (Kaplan-Meier-Survivalanalyse unter Einschluss aller Ersttransplantationen zwischen 1987 und 1998). Bei verstorbenen Patienten wurde unabhängig von der Todesursache der Todeszeitpunkt auch als Funktionsende des Transplantates gewertet.

Hochdosis-Induktion versus TDT:  $p=0,011$

Mehrfachdosis-Induktion versus TDT:  $p=0,246$

Hochdosis-Induktion versus Mehrfachdosis-Induktion:  $p=0,687$

Die beobachteten Überlebensraten waren bei präsensibilisierten (PRA positiv) und bei nicht präsensibilisierten Patienten vergleichbar (Tab. 6).

### Transplantatüberleben

Werden Todesfälle unabhängig von ihrer Ursache als Ende der Transplantat-

funktion gewertet (Tab. 7a), haben beide ATG-F-Induktionsgruppen einen klaren und statistisch signifikanten Vorteil im Transplantatüberleben im Vergleich zu Patienten mit alleiniger TDT (Abb. 2). Für die ATG-F-Hochdosisgruppe liegt die sog. Eventrate am Ende des Beobachtungszeitraumes um 72% niedriger als für die TDT-Gruppe allein (Risikoratio von 62,8% und 36,6%

Transplantatüberleben;  $p<0,001$ ; Tab. 7a). Die Kaplan-Meier-Survivalanalyse ergab eine signifikante Risikominde- rung für ein Transplantatversagen bei Patienten der ATG-F-Hochdosisgruppe im Vergleich zu den Patienten der alleinigen TDT-Gruppe sowohl nach 5 ( $p=0,024$ ) und 10 Jahren ( $p=0,023$ ) wie auch für den Vergleich der Survivalkurven für die gesamte 10 Jahresperiode (Log-Rank-Test:  $p=0,011$ ). Wenn Patienten, die mit einem funktionierenden Transplantat verstarben, zensiert wurden (Tab. 7b), zeichnete sich die ATG-F-Hochdosisinduktion mit signifikant besseren Ergebnissen im Vergleich zur ATG-F-Mehrfachdosierung und der alleinigen TDT aus.

Bei alleiniger Betrachtung der zwischen 1988-1991 erfolgten Transplantationen waren die Vorteile der ATG-F-Hochdosisinduktion im Vergleich zur alleinigen TDT in gleicher Stärke nachzuweisen wie für den Gesamtzeitraum 1987-1998 (Tab. 8). Für die Mehrfachdosis-Induktion sind die für beide Zeiträume ausgewiesenen Daten identisch, da dieser Induktionstyp nur zwischen 1988 und 1991 angewendet wurde.

Die Tabellen 3 und 4 zeigen eine Ungleichverteilung des zahlenmäßigen Umfangs der präsensibilisierten Patienten zwischen den Behandlungsgruppen. Da der Anteil PRA-negativer Patienten in der ATG-F-Mehrfachdosierungsgruppe sehr gering war und somit für eine vergleichende Betrachtung nicht geeignet ist, zeigt die Abb. 3 ausschließlich Überlebenskurven der PRA-positiven Patienten, die im Zeitraum 1998-1991 ein Ersttransplantationen erhalten haben, wodurch die potentiellen Einflüsse sowohl der Transplantationsperiode als auch des Präsensibilisierungsstatus konstant gehalten wurden. Zwischen der Länge der kalten Ischämiezeiten in den Behandlungsgruppen (Tab. 4) gab es keine statistisch signifikanten Unterschiede.

In dieser Untergruppe betrug die Anzahl der für eine Analyse verfügbaren Patienten 22 in der Hochdosis-Gruppe, 70 in der Mehrfachdosis-Gruppe und 37 in der alleinigen TDT-Gruppe. Trotz dieser relativ kleinen Patientenzahlen waren die Gruppendifferenzen zugunsten von ATG-F (insbesondere für die Hochdosis-Induktion) hinsichtlich des zeitlichen Verlaufs für das Transplantatüberleben vergleichbar stark ausgeprägt wie in der Gesamtanalyse (mittlere Überlebenszeit und 95% Konfidenz-

Tab. 7a: Transplantatüberleben bei Bewertung der Todesfälle als Funktionsende des Transplantates. Kaplan-Meier-Schätzer mit Standardfehler und p-Werten des t-Tests (am Ende der postoperativen Jahre 1, 5 und 10) und Anzahl (%) der Patienten ohne Ereignis bis zum individuellen Ende des Beobachtungszeitraums (mit p-Wert des  $\chi^2$ -Tests).

	Kaplan-Meier-Schätzer / % Patienten mit funktionieren- dem Transplantat			p		
	TDT + ATG - Hochdo- sis n = 484	TDT + ATG - Mehr- fachdosis n = 78	TDT n = 216	Hoch- dosis versus TDT	Mehr- fach- dosis versus TDT	Hochdo- sis versus Mehr- fach- dosis
1. Jahr	0,878 ± 0,015	0,856 ± 0,040	0,846 ± 0,025	0,273	0,832	0,607
5. Jahr	0,775 ± 0,019	0,761 ± 0,049	0,691 ± 0,032	0,024	0,233	0,790
10. Jahr	0,583 ± 0,027	0,557 ± 0,058	0,482 ± 0,035	0,023	0,269	0,685
Individ. Ende Bzr.*	304 (62,8%)	41 (52,6%)	79 (36,6%)	<0,001	0,014	0,085

\*individuelles Ende des Beobachtungszeitraumes

Tab. 7b: Transplantatüberleben bei Zensierung der mit einem funktionierenden Transplantat verstorbenen Patienten. Kaplan-Meier-Schätzer mit Standardfehler und p-Werten des t-Tests (am Ende der postoperativen Jahre 1, 5 und 10) und Anzahl (%) der Patienten ohne Ereignis bis zum individuellen Ende des Beobachtungszeitraums (mit p-Wert des  $\chi^2$ -Tests).

	Kaplan-Meier-Schätzer / % Patienten mit funktionieren- dem Transplantat			p		
	TDT + ATG - Hochdo- sis n = 484	TDT + ATG - Mehr- fachdosis n = 78	TDT n = 216	Hoch- dosis versus TDT	Mehr- fach- dosis versus TDT	Hochdo- sis versus Mehr- fach- dosis
1. Jahr	0,914 ± 0,013	0,829 ± 0,043	0,822 ± 0,027	0,002	0,089	0,059
5. Jahr	0,850 ± 0,017	0,734 ± 0,051	0,710 ± 0,032	<0,001	0,069	0,031
10. Jahr	0,738 ± 0,027	0,577 ± 0,058	0,584 ± 0,035	<0,001	0,918	0,011
Individ. Ende Bzr.*	375 (77,5%)	45 (57,5%)	116 (53,7%)	<0,001	0,544	<0,001

\*individuelles Ende des Beobachtungszeitraumes

tervall, Kaplan-Meier-Schätzer: ATG-F-Hochdosis: 100 (86; 115) Monate; ATG-F-Mehrfachdosierung: 93 (83; 103) Monate; TDT: 81 (64; 98) Monate, jeweils bei Zensierung nach 10 Jahren).

#### Rejektionskrisen

Wie in Tabelle 9 und in Abb. 4 ausgewiesen, hatten rund 70% der Patienten in den beiden Gruppen mit ATG-F-Induktion keine Anzeichen für eine Ab-

stoßungskrise, in der TDT-Gruppe hingegen nur 56%. Die Wirksamkeit der ATG-F-Hochdosis-Induktion im Vergleich zur alleinigen TDT im Hinblick auf das Rejektionsrisiko war statistisch ebenso nachweisbar, wenn nur die Transplantationen zwischen 1988 und 1991 betrachtet wurden (alle Fälle:  $p < 0,001$ ; versus 1988-1991:  $p = 0,011$ ). PRA-negative und PRA-positive Patienten erzielten bezüglich des Auftretens von Rejektionskrisen vergleichbare Ergebnisse (Tabelle 10).

#### Postoperative Transplantatfunktion

Aus Tabelle 11 kann entnommen werden, dass der prozentuale Anteil der Patienten mit einer sofortigen Aufnahme der Nierenfunktion nach Transplantation in der ATG-F-Hochdosis-Gruppe im Vergleich zu den Gruppen mit ATG-F-Mehrfachdosierung und TDT allein am höchsten war. Die Gruppendifferenzen zwischen der ATG-F-Hochdosis-Gruppe und den beiden anderen Gruppen sind statistisch signifikant. Nahezu identische Verhältnisse konnten in den Subgruppen PRA-negativer Patienten ( $p < 0,001$ ) und PRA-positiver Patienten ( $p = 0,054$ ) nachgewiesen werden (Tabelle 12).

Die verzögerte Funktionsaufnahme war der einzige Parameter, der einen klinisch bedeutsamen Einfluss durch die gewählten und in den Tabellen 3 und 4 ausgewiesenen Zeiträume erkennen ließ. Während im Zeitraum 1987-1998 die ATG-F-Hochdosis-Induktion mit signifikant besseren Ergebnissen assoziiert war als die TDT allein, war im Zeitraum 1988-1991 nur ein minimaler Nutzen gegenüber der TDT zu sehen.

## Diskussion

Seit dem ersten Bericht über die Effektivität der intraoperativen ATG-F-Hochdosis-Prophylaxe anlässlich des ESOT-Kongresses 1991 in Maastricht [24], haben nachfolgend eine Reihe retrospektiver Auswertungen aus dem Berliner Zentrum [25-28] und anderen renommierten Einrichtungen [29-32] wie auch mehrere internationale, randomisierte Studien [33-38] eine signifikante Verbesserung der Transplantationsergebnisse gegenüber einer TDT ohne ATG-F-Induktion belegt. In einer von Yussim u. Shapira [37] durchge-

	TDT+ATG-Hochdosis versus TDT		TDT+ATG-Mehrfachdosis versus TDT	
	1987-1998	1988-1991	1987-1998	1988-1991
Patientenüberleben	0,221	0,104	0,083	0,177
Transplantatüberleben, verstorbene Patienten zensiert	<0,001	0,004	0,947	0,661
Transplantatüberleben, verstorbene Patienten = Tx-Versagen	0,011	0,010	0,246	0,505
Rejektionskrisen	<0,001	0,011	0,038	0,090

Tab. 8: p-Werte des Log-Rank-Tests für Vergleiche der Kohorten-Überlebenskurven für die Zeiträume 1987-1998 und 1988-1991

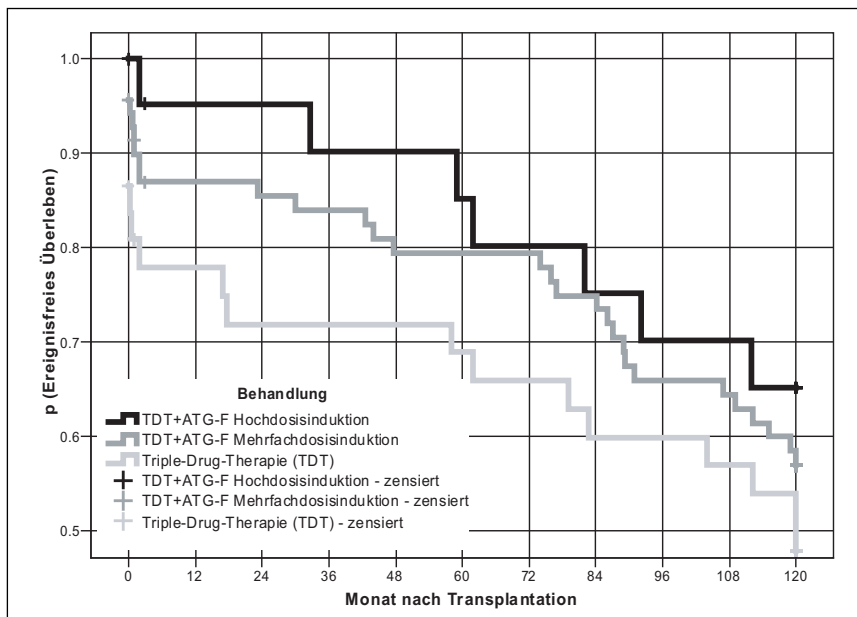


Abb. 3: Transplantatüberleben in den 3 untersuchten Therapiegruppen (Kaplan-Meier-Survivalanalyse unter Einschluss aller PRA-positiver Ersttransplantationen zwischen 1988 und 1991). Bei verstorbenen Patienten wurde unabhängig von der Todesursache der Todeszeitpunkt auch als Funktionsende des Transplantates gewertet.

Log-Rank-Test:

Hochdosis-Induktion versus TDT:  $p=0,010$

Mehrfachdosis-Induktion versus TDT:  $p=0,505$

Hochdosis-Induktion versus Mehrfachdosis-Induktion.  $P=0,130$

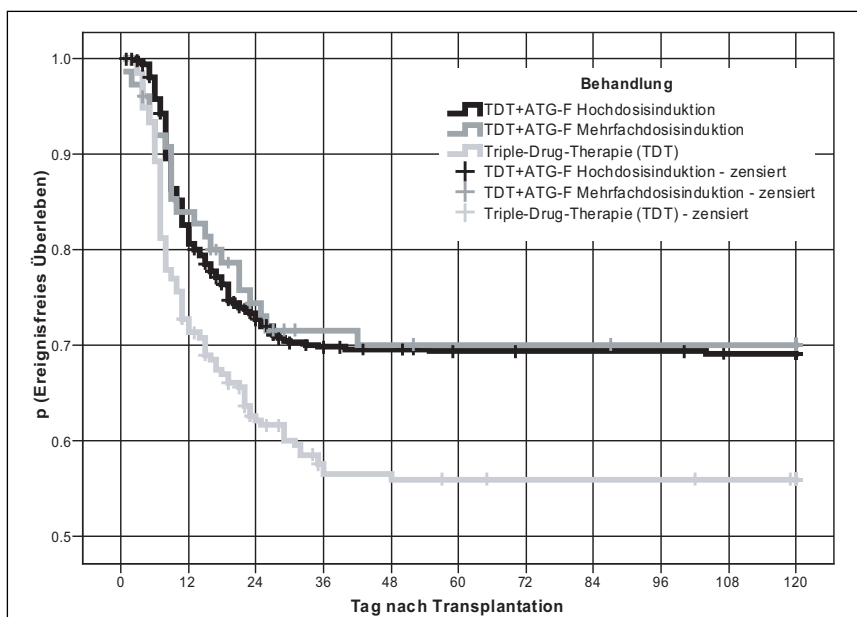


Abb. 4: Rejektionsfreies Überleben in den 3 untersuchten Therapiegruppen (Kaplan-Meier-Schätzer unter Einschluss aller Ersttransplantationen zwischen 1987 und 1998).

Hochdosis-Induktion versus TDT:  $p<0,001$

Mehrfachdosis-Induktion versus TDT:  $p=0,038$

	TDT		TDT+ATG-F Mehrfachdosis		TDT+ATG-F Hochdosis	
	1987- 1998 alle Fälle n = 216	1988- 1991 n = 160	1987- 1998 alle Fälle n = 78	1988- 1991 n = 78	1987- 1998 alle Fälle n = 484	1988- 1991 n = 135
Rejek- tionen						
keine n %	121 (56,5%)	93 (58,9%)	54 (71,1%)* <sup>1</sup>	54 (69,2%)	334 (69,6%)* <sup>2</sup>	98 (72,6%)* <sup>3</sup>

Mann-Whitney U-Test zur Anzahl der Abstoßungskrisen pro Patient

\*<sup>1</sup> Mehrfachdosis versus TDT 1987-1998 (p=0,018)

\*<sup>2</sup> Hochdosis versus TDT 1987-1998 (p<0,001)

\*<sup>3</sup> Hochdosis versus TDT 1988 - 1992 (p=0,011)

Tab. 9: Anzahl der Patienten ohne Rejektionskrisen während der ersten 120 postoperativen Tage. Analyse alle Ersttransplantationen in den Zeiträumen 1987-1998 und 1988-1991.

	TDT		TDT+ATG-F Mehrfachdosis		TDT+ATG-F Hochdosis	
	1987- 1998 alle Fälle n = 216	1988- 1991 n = 160	1987- 1998 alle Fälle n = 78	1988- 1991 n = 78	1987- 1998 alle Fälle n = 484	1988- 1991 n = 135
Rejek- tionen						
<b>PRA negativ</b>						
keine n %	92 (58,2%)	71 (58,7%)	5 (71,4%)	5 (71,4%)	283 (71,8%)* <sup>3</sup>	82 (72,6%)* <sup>1</sup>
<b>PRA positiv</b>						
keine n %	29 (51,8%)	22 (59,5%)	49 (71,0%)* <sup>4</sup>	49 (71,0%)	51 (59,3%)	16 (72,7%)* <sup>2</sup>

Mann-Whitney U-Test zur Anzahl der Abstoßungskrisen pro Patient

\*<sup>1</sup> Hochdosis versus TDT, PRA negativ, 1988-1991 (p=0,026)

\*<sup>2</sup> Hochdosis versus TDT, PRA positiv, 1988-1991 (p=0,014)

\*<sup>3</sup> Hochdosis versus TDT, PRA negativ, 1987-1998 (p=0,002)

\*<sup>4</sup> Mehrfachdosis versus TDT, PRA positiv, 1987-1998 (p=0,018)

Tab. 10: Anzahl der Patienten ohne Rejektionskrisen während der ersten 120 postoperativen Tage in Abhängigkeit vom präoperativen Nachweis panelreaktiver Antikörper (PRA). Analyse aller Ersttransplantationen in den Zeiträumen 1987-1998 und 1988-1991.

	TDT		TDT+ATG-F Mehrfachdosis		TDT+ATG-F Hochdosis	
	1987- 1998 alle Fälle n = 216	1988- 1991 n = 160	1987- 1998 alle Fälle* n = 78	1988- 1991 n = 77	1987- 1998 alle Fälle** n = 484	1988- 1991 n = 135
Postope- rative Nieren- funktion						
sofort	98 (45,4%)	81 (50,6%)	37 (48,1%)	37 (48,1%)	301 (62,3%)	73 (54,1%)
verzögert	98 (45,4%)	65 (40,6%)	34 (44,2%)	34 (44,2%)	159 (32,9%)	58 (43,0%)
nie	20 (9,3%)	14 (8,8%)	6 (7,8%)	6 (7,8%)	23 (4,8%)	4 (3,0%)

Mann-Whitney U-Test \*<sup>1</sup> Hochdosis versus TDT, PRA negativ, 1988-1991 (p=0,026)

\* Hochdosis versus Mehrfachdosis 1987-1998 (p=0,016)

\*\*Hochdosis versus TDT 1987-1998 (p<0,001)

Tab. 11: Die postoperative Transplantatfunktion in den drei untersuchten Therapiegruppen (Anzahl der Patienten, %). Analyse aller Ersttransplantationen in den Zeiträumen 1987-1998 und 1988-1991.

Tab. 12: Die postoperative Transplantatfunktion in den drei untersuchten Therapiegruppen (Anzahl der Patienten, %) in Abhängigkeit vom präoperativen Nachweis panelreaktiver Antikörper (PRA). Analyse aller Ersttransplantationen in den Zeiträumen 1987-1998 und 1988-1991.

	TDT		TDT+ATG-F Mehrfachdosis		TDT+ATG-F Hochdosis	
	1987-1998 alle Fälle n = 216	1988-1991 n = 160	1987-1998 alle Fälle n = 77	1988-1991 n = 77	1987-1998 alle Fälle n = 484	1988-1991 n = 135
<b>PRA negativ</b>					*	
sofort	75 (46,9%)	63 (51,2%)	4 (5,1%)	4 (5,1%)	253 (63,9%)	60 (53,1%)
verzögert	74 (74,3%)	54 (43,9%)	1 (1,3%)	1 (1,3%)	126 (31,8%)	49 (43,4%)
nie	11 (6,9%)	6 (4,9%)	2 (2,6%)	2 (2,6%)	17 (4,3%)	4 (3,5%)
<b>PRA positiv</b>					**	
sofort	23 (41,1%)	18 (48,6%)	33 (47,1%)	33 (47,1%)	48 (55,2%)	13 (59,1%)
verzögert	24 (42,9%)	11 (29,7%)	33 (47,1%)	33 (47,1%)	33 (37,9%)	9 (40,9%)
nie	9 (16,1%)	8 (21,6%)	4 (5,7%)	4 (5,7%)	6 (6,9%)	0

Mann-Whitney U-Test

\* Hochdosis versus TDT, PRA negativ, 1987-1998 (<0.001)

\*\* Hochdosis versus TDT, PRA positiv, 1987-1998 (p=0,054)

fürten, prospektiven, randomisierten Studie war die Inzidenz akuter Rejektionskrisen in der ATG-F-Hochdosis-Induktionsgruppe signifikant niedriger als in der TDT-Gruppe (26% vs. 58%, p<0,05). Über ein vergleichbares Ergebnis berichteten Samsel et al. [35] (22,5% akute Rejektionen in der ATG-F-Hochdosis-Gruppe vs. 35,9% in der Kontroll-Gruppe). Tullius et al. [38] verglichen in einer prospektiv randomisierten Studie die ATG-F-Hochdosis-Induktion mit einer Simulect-Induktion und fanden ein verbessertes 1-Jahres-Patienten- (100% vs. 93,5%) und -Transplantatüberleben (2 vs. 9 Transplantatverluste) in der ATG-F-Gruppe. Kyllönen et al. [34] berichteten in einer ebenfalls prospektiven randomisierten Studie über eine signifikant niedrigere Rate verzögerter Funktionsaufnahmen in der ATG-F-Hochdosis-Induktionsgruppe im Vergleich zu einer Simulect-Gruppe und einer alleinigen TDT-Gruppe (5,7% vs. 24,1% und 15,9%, p<0,025). Wang et al. [33] erzielten mittels ATG-F-Hochdosisinduktion bei

präsensibilisierten Rezipienten gleich gute Ergebnisse wie bei nicht präsensibilisierten Patienten. Insgesamt wurde die ATG-F-Hochdosis-Induktion als effektiv und sicher beurteilt. In der vorliegenden Arbeit werden die Ergebnisse einer Gesamtanalyse aller 778 Ersttransplantationen, die zwischen 1987 und 1998 im Nierentransplantationszentrum Berlin-Friedrichshain ausgeführt wurden und den Behandlungsgruppen Triple-Drug-Therapie ohne und mit ATG-F-Induktion zuzuordnen sind, präsentiert. Die Ergebnisse belegen, dass eine zusätzlich zur TDT angewandte ATG-F-Induktion das Risiko von Komplikationen nach Nierentransplantation signifikant reduziert. Insbesondere die singuläre intraoperative Infusion von 9 mg/kg ATG-F war der alleinigen TDT signifikant überlegen hinsichtlich der Verbesserung des Patientenüberlebens und der Reduzierung des Risikos eines Transplantatverlustes sowie dem Auftreten von Rejektionskrisen. Die Mehrfachdosis-ATG-F-Induktion (3 mg/kg KG an 7

oder 8 postoperativen Tagen, ebenfalls intraoperativ beginnend) bewirkte als Zusatz zur TDT die günstigsten Ergebnisse hinsichtlich des Patientenüberlebens, d.h. signifikante Verbesserung im Vergleich zur alleinigen TDT (jedoch nicht im Vergleich zur Gruppe TDT+Hochdosis-ATG-F).

Während des 10-jährigen Beobachtungszeitraumes (diese Periode wurde gewählt, um die potentielle Verzerrung der Survivalanalyse durch das Zensieren zu begrenzen) wurde die Wahrscheinlichkeit eines Patientenüberlebens von 0.8 in der TDT+Mehrfachdosis-ATG-F-Gruppe nach etwa 120 Monaten erreicht, in der alleinigen TDT-Gruppe jedoch nach bereits etwa 72 Monaten. Diese Daten zeigen einen Vorteil im Patientenüberleben von annähernd 4 Jahren innerhalb eines 10-Jahres-Beobachtungszeitraumes.

Die ATG-F-Mehrfachdosis-Induktion hatte auch einen signifikanten Vorteil gegenüber der alleinigen TDT, wenn der Tod eines Patienten mit funktionierendem Transplantat als Funktionsende gewertet wurde. Bei Zensierung dieser Rezipienten konnte jedoch kein signifikanter Unterschied ermittelt werden, d. h. die ATG-F-Mehrfachdosis-Induktion verbesserte das Patientenüberleben, hatte jedoch keinen weiteren signifikant positiven Einfluss auf das Transplantatüberleben der Patienten, die am Beobachtungsende noch am Leben waren. Eine mögliche Erklärung dafür könnte darin bestehen, dass in der Mehrfachdosis-Induktionsgruppe die Anzahl PRA-positiver Rezipienten substantiell höher war als in der TDT-Gruppe. Wenn nur die PRA-positiven Patienten analysiert wurden, dann verminderte die Mehrfachdosis-Induktion auch das Risiko eines Transplantatverlustes bei diesen Patienten (s. Abb. 3).

Hinsichtlich der Häufigkeit von Therapie erforderlichen Abstoßungskrisen waren die Patienten in den ATG-F-Hochdosis- und Mehrfachdosis-Induktions-Gruppen vergleichbar. Die Unterschiede in der Größe der p-Werte beim Vergleich mit der TDT-Gruppe ist den unterschiedlich großen Fallzahlen beider ATG-F-Gruppen zuzuschreiben.

Um mögliche Verzerrungen der Ergebnisse durch den zeitlichen Versatz der mit den unterschiedlichen Protokollen behandelten Patienten-Kohorten zu vermeiden, wurde eine auf die Jahre 1988-1991 begrenzte Subgruppenanalyse ausgeführt. In diesem Zeitraum wurden

alle drei Therapieformen nahezu parallel angewendet. Ein Vergleich der Ergebnisse dieser Subgruppenanalyse mit denen der Gesamtanalyse ergab jedoch nur sehr geringe Differenzen hinsichtlich Patienten- und Transplantatüberleben sowie der Häufigkeit von Rejektionstherapien bei den Patienten, die ATG-F zusätzlich zur TDT bekommen hatten. Die einzige Ausnahme bildete die Verminderung der verzögerten Funktionsaufnahme. Während in der Gesamtauswertung die ATG-F-Hochdosis-Induktion der alleinigen TDT signifikant überlegen war, konnte für den Zeitraum 1998-1991 nur ein geringer Nutzen nachgewiesen werden. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass neben der immunsuppressiven Therapie primär auch andere Faktoren (z.B. Qualifizierung der Entnahmeteams, Optimierung der Perfusionslösungen, Reduzierung der mittleren kalten Ischämiezeit u.a.) an der Verminderung des Risikos für eine verzögerte Transplantatfunktionsaufnahme beteiligt waren. Andererseits belegen die Resultate von Hammer und Thein [39, 40] eindeutig den protektiven Effekt auf den Reperfusionsschaden, wenn ATG-F prophylaktisch vor dem ersten Kontakt der immunreaktiven Lymphozyten mit den fremden Oberflächenstrukturen appliziert wurde.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Analyse der Daten von 778 Nierentransplantationen, die in einem Zeitraum von etwa 12 Jahren durchgeführt wurden, eindeutig belegt, dass die Infusion von ATG-F als Teil der immunsuppressiven Therapie sowohl das Patientenüberleben signifikant verbessert als auch die Risiken eines Transplantatverlustes oder einer Abstoßungskrise signifikant vermindert.

Die ausgezeichneten Ergebnisse der singulären intraoperativen ATG-F-Hochdosis-Induktion sind dabei, wie nachfolgend diskutiert werden soll, nicht nur durch ihre immunsuppressive Wirkung, sondern auch durch ihre immunregulatorische Potenz bedingt.

#### *Wirkmechanismen der hochdosierten intraoperativen ATG-F-Applikation*

##### *T-Zelldepletion*

Die engmaschige prä-, intra- und postoperative Kontrolle der T-Zellzahl im peripheren Blut belegt eine vollkommene T-Zell-Depletion zum Zeitpunkt der

Öffnung der Anastomosen [25]. Damit wird eine maximale Immunsuppression zu einem Zeitpunkt erzielt, an dem der Rezipient zum ersten Male mit dem Antigenespektrum des Spenderorgans konfrontiert wird. Nachfolgend steigt die T-Zellzahl sukzessive an, weist bei unkomplizierten Verläufen am 4./5. postoperativen Tag die Hälfte des Ausgangswertes auf, den sie am 10./11. postoperativen Tag wieder erreicht [41]. Wie wir bereits 1983 [42] zeigen konnten, wiesen auch in den nachfolgenden Wochen Patienten mit Sofortfunktion und komplikationslosem Verlauf signifikant höhere T-Zellzahlen auf als Patienten mit komplikationsreichen Verläufen. Eine langzeitige T-Lymphopenie ist somit keine Voraussetzung für einen guten Transplantationserfolg. Die in der Frühphase vielfach beschriebenen Balanceänderungen zwischen Effektor-, Regulator- und Memory-Zellen hängen nach Toso et al. [43] in ihren differierenden Ausprägungen von der gewählten Induktionsbehandlung ab. Diese bestimmt zudem auch das langzeitige quantitative Verhältnis der CD4+ und CD8+ Zellen mit ihren nicht sicher zu verifizierenden Wirkungen und Nebenwirkungen. Müller et al. [44] und Lange et al. [45] berichteten über eine CD4/8-Quotientenverminderung auf 0,5 mit einem Nachweis noch 5 Jahre *post transplantationem* nach Gabe einer mittleren kumulativen ATG-F-Dosis von 2272 mg/Rezipient und einer mittleren Therapieperiode von  $9,4 \pm 5,1$  Tagen. Derartige Langzeitveränderungen werden durch die Hochdosis-Induktion bei signifikanter Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit nicht hervorgerufen. In einer Analyse der Daten von 54 Rezipienten konnte zudem nachgewiesen werden, dass Patienten mit komplikationslosen Verläufen CD4/8-Quotienten während des gesamten ersten postoperativen Jahres im Normbereich aufwiesen. Bei Ausschluss Antikörper-behandelter Rejektionskrisen kam es lediglich bei Patienten mit einer CMV-Infektion zum Zeitpunkt der CMV-IgM-Konversion zu einer signifikanten Verminderung des CD4/8-Quotienten [46].

##### *Erhöhung der postoperativen Cyclosporin-Empfindlichkeit der peripheren Blutlymphozyten*

Die Einführung des Cyclosporins (Cs) in die Nierentransplantation war ein Meilenstein in der Geschichte der Or-

gantransplantation [47]. Sein Wirkmechanismus beruht auf einer spezifischen IL-2-Hemmung. In einer Reihe von Untersuchungen konnte belegt werden, dass die erforderliche Cs-Dosis zur Suppression der IL-2-Produktion in aktivierten T-Zellen stark erhöht ist. Die Bestimmung der niedrigsten Cs-Dosis, die eine adäquate Immunsuppression garantiert, ist somit von großer Bedeutung. Die Arbeitsgruppe um Varghese [48, 49] bestimmte 2 Tage vor und 3 Tage sowie 1 Monat nach ATG-F-Hochdosis-Induktion die  $IC_{50}$  (inhibitory concentration) von Cs für die IL-2-Hemmung unter Verwendung zytotoxischer CTLL-2-Mäusezellen, deren Wachstum IL-2-abhängig ist. Die Analyse der Ergebnisse zeigte eine signifikante Verminderung der  $IC_{50}$  sowohl 3 Tage als auch einen Monat nach Transplantation im Vergleich zum Vortransplantationswert. Diese Daten belegen, dass Nierentransplantatempfänger nach einer intraoperativen hochdosierten ATG-F-Induktionstherapie signifikant sensitiver gegenüber Cs in der postoperativen Phase im Vergleich zu den präoperativen Werten sind. Indem durch die intraoperative ATG-F-Hochdosis-Verabreichung aktivierte T-Zellen entfernt werden, kann die erforderliche Cs-Dosierung postoperativ reduziert werden, wodurch es neben der Reduktion der Rejektionshäufigkeit auch zu einer Verminderung der Cs-Nephrotoxizität kommt. Diese Daten waren eine experimentelle Bestätigung der Richtigkeit unserer initialen Entscheidung, den Cs-Spiegel in der ersten postoperativen Woche auf nur 100ng/ml einzustellen. Bereits 1988 berichtete Opelz [50] über die vergleichsweise besten 3-Jahresüberlebensraten einer sequentiellen Therapie (n=908 Rezipienten), wobei nach einer 5- bis 20-tägigen ATG-Behandlung die Konversion auf Cs erfolgte. Den in dieser Auswertung aufgrund des Mangels an Uniformität angeregten Single-Center-Studien wurde von diesem Zentrum [51] mit den im Jahr 2001 präsentierten Untersuchungen Rechnung getragen. Eine Auswertung der Transplantationsergebnisse zwischen 1983 und 1993 ergab eine Verbesserung der 6-Monats-Transplantatüberlebensrate von 61,5% (n=517; Aza+Pred) über 83,8% (n=179; Aza+Pred+Cs) auf 92,7% (n=179; Aza+Pred+Cs +ATG-F-Hochdosis).

### *Beeinflussung vieler immunologischer Reaktionen durch ein breites Antikörperspektrum [52]*

Neben lymphozytotoxischen Antikörpern enthält ATG-F hohe Antikörperaktivitäten gegen den CD3/TCR/HLA-Komplex, wodurch das erste Signal der direkten Alloerkennung beeinflusst wird, gegen ko-stimulatorische Moleküle (z.B. CD28), die für die T-Zell-Proliferation und IL-2-Produktion erforderlich sind, gegen Moleküle, die für Adhäsion und Proliferation bedeutungsvoll sind (z.B. LFA1/LA4 and ICAM1) und damit die Wechselwirkungen zwischen APCs and T-Zellen sowie zwischen Endothelzellen und Leukozyten beeinflussen, und gegen anderen Moleküle wie den Aktivierungsmarker CD71 und den Apoptosemediator CD95.

### *Steigerung der IL-10- und Verminderung der IL-12-Konzentration im Serum*

Saint-Hillier et al. [29] und Kaden [53] berichteten nach engmaschigen Serumuntersuchungen im zeitlichen Zusammenhang mit einer Hochdosis-ATG-F-Induktion über einen intraoperativen Anstieg der Serumkonzentration von IL-10 bei gleichzeitiger Verminderung der Konzentration des  $T_{H1}$ -Zytokins IL-12, womit eine Verlagerung innerhalb der  $T_{H1}/T_{H2}$ -Balance in Richtung  $T_{H2}$  angezeigt wird. Anhand der Untersuchung des Zytokinprofils bei 105 Kindern unterschiedlicher Altersklassen konnten Ganschow et al. [54] nachweisen, dass Kleinstkinder im Alter zwischen 0-12 Monaten im Vergleich zu älteren Kindern (1-3 Jahre und >3Jahre) die niedrigste Inzidenzrate akuter Rejektionen (26,8%, 40%, 71,8%) nach Lebertransplantation aufwiesen, wobei diese bessere Transplantatakzeptanz signifikant mit der Verschiebung der physiologischen Balance in Richtung  $T_{H2}$ -Zytokinprofils bei den Kleinstkindern korrelierte.

Diese  $T_{H2}$ -Betonung hat nicht nur eine direkte Verminderung der T-Zellaktivierung zur Folge, sondern fördert gleichzeitig die Ausbildung regulatorischer T-Zellen durch Konversion von  $CD4^+CD25^-$  in  $CD4^+CD25^+$  T-Zellen.

### *Expansion regulatorischer T-Zellen ex vivo*

Im Jahr 2006 berichteten Lopez et al. [55] über die Umwandlung signifikanter Anteile von  $CD4^+CD25^-$  T-Lympho-

zyten nach Inkubation mit zwei polyklonalen Anti-T-Zell-Antikörpern (Thymoglobulin und ATG-F) in  $CD4^+CD25^+$  T-Zellen, den charakteristischen Markern für regulatorische T-Zellen. Vergleichbare Änderungen des Expressionsmusters konnten durch die ebenfalls eingesetzten monoklonalen Antikörper Simulect, Zenapax und Campath-1 nicht erreicht werden. Eine Bestätigung der Ausbildung regulatorischer T-Zellen in vitro nach Inkubation der Lymphozyten mit ATG-F erfolgte 2008 durch Rafaeli et al. [56]. Bemerkenswert in diesem Zusammenhang sind die Berichte von Braudeau et al. [57] und Volk [58], die im peripheren Blut von Transplantatempfängern mit chronischen Rejektionen verminderte Zahlen von  $CD4^+CD25^{++}FoxP3^+$  T-Zellen, bei Rezipienten mit guter Transplantatfunktion hingegen Zahlen wie bei gesunden Freiwilligen beschrieben. Ob der Nachweis normaler oder gar erhöhter Zahlen an regulatorischen T-Zellen jedoch eine Möglichkeit zur Erkennung von Toleranzzuständen bei Patienten darstellt, muss weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

### *Interaktion mit dendritischen Zellen (Suppression von IL-12)*

Die dendritischen Zellen sind die potentesten antigen-präsentierenden Zellen des Immunsystems mit einem breiten Spektrum an CD-Markern. Die Inkubation dieser Zellen mit polyklonalen antilymphozytären Seren ließ nach Bindung an die Zelloberflächenrezeptoren Interferenzen mit grundlegenden Zellfunktionen erwarten. Neben der Apoptoseinduktion beschrieben Naujokat et al. [59] u.a. nach Inkubation mit ATG-F die Verminderung der Produktion des  $T_{H1}$ -stimulierenden Lymphokins IL-12 in vitro. Diese experimentellen Daten stimmen gut mit den klinischen Daten [29, 53] überein.

### *Wirkung als ‚silencing‘ Faktor*

Kynurenin gehört zu den immunsuppressiv wirkenden Metaboliten des Tryptophans. Der Tryptophan-Abbau wird durch die (mittels TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  und LPS-Bindung an Toll-like-Rezeptoren) induzierbare Indolamin 2,3-Desoxigenase (IDO) bewirkt. Eine wesentliche Wirkung des Kynurenins besteht in der Gegenregulation zu einer Immunaktivierung. Experimentelle Daten führten zur Hypothese, dass regulatorische T-Zellen ihre immunsuppressi-

ve Funktion über eine Initiierung der IDO-Aktivität bewirken [60].

Der im Serum gut messbare Kynureninspiegel reflektiert somit die Höhe der IDO-Aktivierung. Es ist bemerkenswert, dass alle prospektiven Nierentransplantatempfänger signifikant erhöhte Kynureninspiegel aufweisen ( $17.5 \pm 5$  nmol/ml; gesunde Freiwillige:  $2.51 \pm 0.66$  nmol/ml), offensichtlich ein Nebeneffekt von Urämie und/oder Dialyse. Nach Eliminierung dieser Ursachen wiesen alle Rezipienten mit sofort funktionierenden Transplantaten eine Normalisierung des Kynureninspiegels innerhalb von 3 bis 5 Tagen auf [61]. Wesentliche Erkenntnis erhielten Abendroth et al. [62-64] bei der Untersuchung von zwei Patientengruppen mit langfristig funktionierenden Transplantaten (Transplantatfunktion >10 Jahre). Die Analyse aller Rezipienten mit vollständig komplikationslosen postoperativen Verläufen und einem Kynureninwert <4 nmol/l am 21. postoperativen Tag (Gruppe 1) ergab eine signifikante Umverteilung zugunsten der Patienten mit ATG-F-Hochdosisinduktion im Vergleich zu den Patienten mit alleiniger TDT (80% versus 20%). Demgegenüber zeigten Patienten mit ebenfalls komplikationslosen postoperativen Verläufen, aber einem Kynureninwert >5.5 nmol/ml am 21. postoperativen Tag (Gruppe 2) signifikant geringere 5- und 10-Jahres-Überlebensraten (5 Jahre, Gruppe 1 vs. 2: 89% vs. 54%; 10 Jahre, Gruppe 1 vs. 2: 71% vs. 29%;  $p < 0.001$ ). Das mediane Transplantatüberleben betrug in Gruppe 1 (n=28) 120 Monate im Vergleich zu 63 Monaten in Gruppe 2 (n=25). Diese Befunde qualifizieren IDO als Differenzierungsmarker hinsichtlich einer langzeitigen Nierentransplantatfunktion. Außerdem scheint die Hochdosis-ATG-F-Induktion offensichtlich als ‚silencing‘ Faktor zu wirken, der eine Balance zwischen Inflammation und immunsuppressiver Therapie repräsentiert.

### *Keine Schädigung von Endothelzellen (Thrombomodulin)*

Thrombomodulin (TM, CD141) ist ein Glykoprotein von 105 kD. Es befindet sich im Wesentlichen an der luminalen Endothelzelloberfläche von Blut- und Lymphgefäßen und ist ein hochaffiner Rezeptor für Thrombin. Da es nicht sezerniert wird, gilt sein Nachweis im Serum als Marker für eine Endothelzellschädigung. Um zu belegen, dass die

Hochdosis-ATG-F-Induktion keine endothelschädigenden Effekte verursacht, wurden mit einem Festphasen-Enzymimmunoassay (Pharmacia & Upjohn Diagnostics GmbH & Co. KG, Elias Division, Freiburg, in Kooperation mit Stefens Biotechnische Analysen GmbH, Ebringen) die TM-Serumspiegel bei 26 Patienten vor und nach Nierentransplantation [65, 66] quantifiziert. Bei gesunden Freiwilligen wurden folgende Referenzbereiche für TM-Serumspiegel vom Hersteller angegeben: <8 ng/ml (negativ), 8-12 ng/ml (grenzwertig), >12 ng/ml (positiv).

Während alle Dialysepatienten unmittelbar vor der Transplantation signifikant erhöhte TM-Konzentrationen aufwiesen (34,6±9,8 ng/ml), was als Hinweis auf endothelschädigende Effekte durch Urämie und/oder Dialysebehandlung gewertet werden kann [ 67-70], kam es unmittelbar nach Transplantation bei allen Rezipienten mit einem sofort funktionierenden Nierentransplantat (n=11) zu einer kontinuierlichen Verminderung des TM-Spiegels. Zum Zeitpunkt der Entlassung aus der stationären Betreuung (Tag 19±4) betrug der TM-Spiegel bei diesen Patienten 10,8±3,0 ng/ml (Kreatinin: 100±24 µmol/L). Bei Patienten, deren Transplantat nie die Funktion aufnahm (n=5), betrug hingegen der TM-Spiegel bei Entlassung (Tag 56±27) 30,1±17 ng/ml. Patienten mit reversiblen Rejektionskrisen (n=10) hatten nach Behandlung mit Methylprednisolon und OKT3 bei Entlassung (Tag 48±15) einen TM-Spiegel von 12,4±3,2 ng/ml (Kreatinin 161±70 µmol/L). Damit konnte belegt werden, dass erstens eine gute Transplantatfunktion in komplikationsfreier Zeit mit einer normalen bzw. annähernd normalen TM-Serumkonzentration einhergeht und zweitens die Hochdosis-ATG-F-Induktion keine Endothelzellschädigung induziert.

Zusammenfassend kann somit festgestellt werden, dass das ATG-F neben der immunsuppressiven Aktivität über eine hohe immunregulatorische Potenz verfügt, die wahrscheinlich ein wesentlicher Faktor für die Effizienz der singulären intraoperativen Hochdosis-Induktion ist. Eine Kombination mit anderen etablierten Immunsuppressiva (z.B. MMF, Tacrolimus) ist nach den vorliegenden Erfahrungen vollkommen unproblematisch. Eine Kombination mit neuen Immunsuppressiva (z.B. mit

dem Ko-Stimulationsblocker Belatacept, einem Fusionsprotein aus dem Fc-Teil des humanen IgG1 und der extrazellulären Domäne des CTLA-4, Bristol-Myers Squibb) könnte Inhalt neuer Studien sein.

## Danksagung

Die Autoren möchten allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des ehemaligen Nierentransplantationszentrums Berlin-Friedrichshain und den in die Patientenbetreuung einbezogenen Abteilungen des Krankenhauses im Friedrichshain für ihre ausgezeichnete Arbeit danken.

## Literatur

1. Metchnikoff E (1899) Études sur la résorption des cellules. *Ann Inst Pasteur (Paris)* 13: 737
2. Chew WB, Lawrence JS (1937) Antilymphocytic serum. *J Immunol* 33: 271
3. Cruickshank AH (1941) Anti-lymphocytic serum. *Brit J exper Path* 22: 126
4. Medawar PB (1944) The behaviour and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits. *J Anat* 78: 176
5. Medawar P (1969) Immunosuppressive agents, with special reference to antilymphocytic serum. *Proc Roy Soc Lond B* 174: 155
6. Woodruff MFA, Andersen WA (1963) Effect of lymphocyte depletion by thoracic duct fistula and administration of antilymphocytic serum on survival of skin homografts in rats. *Nature* 200: 702
7. Singh LM, Vega RE, Makin GS, Howard JM (1965) External thoracic duct fistula and canine renal homograft. *JAMA* 191: 1009
8. Winchell HS, Pollycove M, Andersen AC, Lawrence JH (1964) Relatively selective beta irradiation of lymphatic structures in dogs using Y90-DTPA. *Blood* 23: 321
9. Gray JG, Monaco AP, Russell PS (1964) Use of heterologous antilymphocyte serum to prolong skin homografts. *Surg Forum* 15: 142
10. Monaco AP, Abbott WM, Othersen HB, Simmons RL, Wood ML, Flax MH, Russel PS (1966) Antiserum to lymphocytes: prolonged survival of canine renal allografts. *Science* 153: 1264
11. Biesecker H, Fitch FW, Rowley DA, Stuart FP (1973) Cellular and humoral immunity after allogeneic transplantation in the rat. *Transplantation* 16: 441
12. Starzl TE, Porter KA, Iwasaki Y, Marchioro TL, Kashiwagi N (1967) The use of heterologous antilymphocyte globulin in human renal homograft transplantation. In: Wolstenholme GEW, O'Connor MO, eds. *Antilymphocyte serum*. CIBA Foundation Study Group No. 29, London, Churchill; 4
13. Kaden J (1972) Antilymphozytäre Sera in Experiment und Klinik. *Dtsch Ges.-Wesen* 27: 241
14. Kaden J (1973) Immunsuppression durch Antilymphozytensera in experimentellen Systemen. In: Pasternak G, Schneeweiß U (Hrsg.) *Transplantations- und Tumorummunologie* (S. 139). Jena: VEB Gustav Fischer Verlag
15. Seiler FR, Schwick HG (Eds.) (1972) *ALG Therapy and Standardization Workshop*. Behring Institute Mitteilungen

16. Pichlmayr R (1972) Use of ALG in Clinical Kidney Transplantation; General Remarks. In: Seiler FR, Schwick HG (Eds.) *Therapy and Standardization Workshop*. Behring Inst Mitt 51: 96
17. Grundmann R, Wienand P, Meider G, Vlaho V, Pichlmaier H (1984) Nutzen und Grenzen einer prophylaktischen Antilymphozytenglobulin-Therapie nach Nierentransplantation. *Klin Wochenschr* 62: 979
18. Köhler G, Milstein C (1975) Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 256: 495
19. Peters HD: Orthoclone OKT3. Cilag GmbH
20. Kaden J, May G, Völp A, Wesslau C (2009) Improved long-term survival after intra-operative single high-dose ATG-Fresenius induction in renal transplantation: a single centre experience. *Ann Transplant* 14: 7
21. Weaver TA, Kirk AD (2007) Alemtuzumab. *Transplantation* 84: 1545
22. Kaden J, Strobelt V, Oesterwiz H, Groth J, May G, Eichler C (1987) Monitoring of renal allograft rejection with fine needle aspiration biopsy and serum C-reactive protein. *Transplant Proc* 19: 1657
23. Groth J, Schönemann C, Kaden J, May G (1996) Dynamics of donor-reactive IgG, IgA and IgM antibodies against T and B lymphocytes early after clinical kidney transplantation using flow cytometry. *Transplant Immunol* 4: 215
24. Kaden J, May G, Schönemann C et al. (1992) Effect of ATG prophylaxis in sensitized and non-sensitized kidney graft recipients. *Transplant Int* 5: S75
25. Kaden J, May G, Müller P et al. (1995) Intraoperative high-dose anti-T-Lymphocyte globulin bolus in addition to triple-drug therapy improves kidney graft survival. *Transplant Proc* 27: 1060
26. Kaden J (2002) Eleven years intraoperative ATG bolus. A list of successes. *Ann Transplant* 7: 4
27. Kaden J, Strobelt V, May G (1998) Short and long-term results after pretransplant high-dose single ATG-Fresenius bolus in cadaveric kidney transplantation. *Transplant Proc* 30: 4011
28. Kaden J (1999) Optimal management of induction therapy with ATG in kidney allograft recipients. *Int J Immunother* 15: 115
29. Saint-Hillier P Y, Racadot E, Fournier V et al. (1999) Pretransplant bolus induction: Impact of two different polyclonal antibodies, ATG Fresenius versus thymoglobuline during five years in kidney transplantation. 6th Congr Asian Soc Transplant, Poster and Abstr, Singapore
30. Ducloux D, Kazory A, Challier B et al. (2004) Long-term toxicity of antithymocyte globulin induction may vary with choice of agent: a single-center retrospective study. *Transplantation* 77: 1029
31. Saudek F, Adamec M, Kořárová, Jedliňáková T, Bouček P, Voska L (2001) Low rejection rate with high-dose ATG bolus therapy in simultaneous pancreas and kidney transplantation. *Transplant Proc* 33: 2304
32. Martins L, Fonseca I, Almeida M et al. (2005) Immunosuppression with antithymocyte globulin in renal transplantation: Better long-term graft survival. *Transplant Proc* 37: 2755
33. Wang D, Chen JH, Wu WZ et al. (2007) One year results of preoperative single bolus ATG-Fresenius induction therapy in sensitized renal transplant recipients. *Transplant Proc* 39: 69
34. Kyllönen LE, Eklund BH, Pesonen EJ, Salmela KT (2007) Single bolus antithymocyte globulin versus basiliximab induction in kidney transplantation with cyclosporin triple immunosuppression: Efficacy and safety. *Transplantation* 84: 75
35. Samsel R, Pliszczynski J, Chmura A et al. (2008) Safety and efficacy of high dose ATG bolus administration on revascularization in kidney graft patients – long term results. *Ann Transplant* 13: 32

36. Bock HA, Gallati H, Zürcher RM et al. (1995) A randomized prospective trial of prophylactic immunosuppression with ATG-Fresenius versus OKT3 after renal transplantation. *Transplantation* 59: 830
37. Yussim A, Shapira Z (2000) Single-bolus high-dose ATG for prophylaxis of rejection in renal transplantation – a prospective, randomized study. *Transplant Int* 13: S293
38. Tullius SG, Pratschke J, Strobelt V et al. (2003) ATG versus basiliximab induction therapy in renal allograft recipients receiving a dual immunosuppressive regimen: one-year results. *Transplant Proc* 35: 2100
39. Hammer C, Thein E (2002) Visualization of the effect of polyclonal antithymocyte globulins on adhesion of leukocytes. *Transplant Proc* 34: 2486
40. Chappell D, Beiras-Fernandez A, Hammer C, Thein E (2006) In vivo visualization of the effect of polyclonal antithymocyte globulins on the microcirculation after ischemia/reperfusion in a primate model. *Transplantation* 81: 552
41. Kaden J, May G, Müller P, Strobelt V, Groth J (1995) Intraoperative T-Zelldepletion mittels ATG als erfolversprechendes Therapiekonzept bei Nierentransplantatempfängern. *Transplantationsmedizin* 7: 182
42. Kaden J, Groth J (1983) Zur Dynamik und diagnostischen Wertigkeit der T-Lymphozytenzahl bei Patienten nach Nierentransplantation. II. Immunosuppression, Rejektion, Infektion. *Dt. Gesundheitswesen* 38: 381
43. Toso C, Edgar R, Pawlick R et al. (2009) Effect of different induction strategies on effector, regulatory and memory lymphocyte sub-populations in clinical islet transplantation. *Transplant Int* 22: 182
44. Müller TF, Grebe SO, Neumann MC et al. (1997) Persistent long-term changes in lymphocyte subsets induced by polyclonal antibodies. *Transplantation* 64: 1432
45. Lange H, Müller FM, Ebel H et al. (1999) Immediate and long-term results of ATG induction therapy for delayed graft function compared to conventional therapy for immediate graft function. *Transplant Int* 12: 2
46. Kaden J, Eichler S, May G, Strobelt V (2002) The ATG bolus does not induce a persistent inversion of the CD4/8 ratio. *Transplant Proc* 34: 2379
47. Caine RY, White DJG, Thiru S et al. (1978) Cyclosporin A in patients receiving allografts from cadaver donors. *Lancet* 2: 1323
48. Abudher MN, Moorhead JF, Fernando ON, Varghese Z (1999) Preoperative ATG bolus treatment increase CsA sensitivity of peripheral blood lymphocytes (PBLs) in renal transplant patients. *Transplant Proc* 31: 3361
49. Varghese Z, Abudher MN, Fernando ON, Moorhead JF (2001) Induction therapy with bolus ATG increases cyclosporine sensitivity in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 33: 2251
50. Opelz G (1998) Comparison of immunosuppressive protocols in renal transplantation: a multicenter view. *Transplant Proc* 20: 31
51. Kaden J, May G, Strobelt V (2001) Cyclosporine based immunosuppression in combination with an intraoperative high dose single antilymphocyte globulin bolus is a highly effective therapeutic protocol in renal transplant recipients. Abstract, Congress: A Transplant Odyssey, Istanbul, Turkey
52. Hayasaka Y, Takahashi K, Yagisawa T (1992) Immunological evaluation on ATG-F on its antibody specificity and the effect on graft rejection. *Proc 28th Conference Japan Transplant Soc, Osaka*: 92
53. Kaden J (2002) Eleven years intraoperative ATG bolus. A list of successes. *Ann Transplant* 7: 4
54. Ganschow R, Broering DC, Nolkemper D et al. (2001) Th2 cytokine profile in infants predisposes to improved graft acceptance after liver transplantation. *Transplantation* 72: 929
55. Lopez M, Clarkson MR, Albin M, Sayegh MH, Najafian N (2006) A novel mechanism of action for anti-thymocyte globulin: induction of CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells. *J Am Soc Nephrol* 17: 2844
56. Rafaeli E, Lytton SD, Nutzenberger AM, Eshkar-Sebban L, Nagler A, Naor D (2008) Generation of regulatory T cells (Tregs) after treatment with polyclonal anti-T lymphocyte globulins (ATG-Fresenius). 8th Int Conference New Trends in Immunosuppr Immunother, Berlin, Abstr.
57. Braudeau C, Racapa M, Giral M et al. (2007) Variation in numbers of CD4+CD25<sup>high</sup>FOXP3+ T cells with normal immuno-regulatory properties in long-term graft outcome. *Transplant Int* 20: 845
58. Volk HD (2007) Predicting tolerance by counting natural regulatory T cells (CD4+25<sup>+</sup>FoxP<sup>+</sup>)? *Transplant Int* 20: 842
59. Naujokat C, Berges C, Fuchs D, Sadeghi M, Opelz G, Daniel V (2007) Antithymocyte globulins suppress dendritic cell function by multiple mechanisms. *Transplantation* 83: 485
60. von Boehmer H (2005) Mechanisms of suppression by suppressor T cells. *Nat Immunol* 6: 338
61. Kaden J, Abendroth D, Marzinzig M, May G (2007) Untersuchungen zur Dynamik der Indoleamin 2,3-Dioxygenase bei Patienten mit unterschiedlichen Verläufen nach Nierentransplantation. *TxMed* 19: 110
62. Abendroth D, Marzinzig M, Kaden J (2008) Indoleamin 2,3 dioxygenase (IDO) als diskriminierender Faktor der Langzeitfunktion nach allogener Nierentransplantation. *TxMed (Suppl II)*: 124
63. Abendroth D, Marzinzig M, Kaden J (2008) Indoleamin 2,3 dioxygenase (IDO) as discrimination factor for long-term function after renal transplantation. XXII Int Congr Transplant Soc, Sydney, Australia, 2008, *Transplantation (Suppl)* 86: 14
64. Abendroth D, Marzinzig M, Kaden J (2009) New parameters for monitoring long-term function after renal transplantation. *Amer Transplant Congr, Boston, US, Abstr No. 79*
65. Kaden J, Liedvogel B, Steffens U, May G (1997) Dynamik und Relevanz des Thrombomodulinspiegels nach Nierentransplantation. *TxMed (Suppl)* 9: P-56
66. Kaden J, Liedvogel B, Steffens U (2000) Die perioperative Thrombomodulinkonzentration im Serum von Nierentransplantatempfängern. In: Heinrichs Ch, Jacob J, eds. *Berlin-Brandenburgische Symposien Neckargemünd, Weller*; 149
67. Ohno Y, Tomura S, Deguchi F, Nakamura Y, Chida Y, Marumo F (1991) Plasma von Willebrand factor and thrombomodulin as markers of vascular disorders in patients undergoing regular hemodialysis therapy. *Thromb Haemost* 65: 946
68. Hergesell O, Andrassy K, Geberth S, Nawroth P, Gabath S (1993) Plasma thrombomodulin levels are dependent on renal function. *Thromb Res* 72: 455
69. Loreth RM, Seus C, Berger HH, Albert FW (1997) Plasma thrombomodulin concentration in hemodialysis patients and in stable kidney transplant carriers. 8th Congr Europ Soc Organ Transplant, Budapest, Abstr 295, p 185
70. Yamazaki M, Asakura H, Sato T et al. (1992) Changes in plasma levels of thrombomodulin during hemodialysis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 3: 113

Dr. Jürgen Kaden  
Torstr. 203  
10115 Berlin  
cokaden321@aol.com