

Aus dem Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin
Klinik für Pädiatrische Nieren-, Leber- und Stoffwechselerkrankungen

**Kaninchen Anti-Human-Thymozyten-Immunglobulin als Rescue-Therapie
bei chronisch-humoraler (antikörpervermittelter) Rejektion
nach pädiatrischer Nierentransplantation**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
in der Medizinischen Hochschule Hannover

Vorgelegt von
Yasemen Cihan
aus Salzgitter
Hannover 2018

Angenommen vom Senat: 27.08.2018

Präsident: Prof. Dr. med. Christopher Baum

Wissenschaftliche Betreuung: Prof. Dr. med. Lars Pape

1. Referent: PD Dr. med. Dr. Gunilla Einecke, PhD

2. Referent: Prof. Dr. med. Stephan Immenschuh

Tag der mündlichen Prüfung: 27.08.2018

Prüfungsausschuss:

Vorsitz: Prof. Dr. med. Alexander Kapp

1. Prüfer: PD Dr. med. Thomas Smith

2. Prüfer: PD Dr. med. Oliver Bachmann

Ars longa, vita brevis reverses.
Hippocrates von Kos

Inhaltsverzeichnis

1. Abkürzungsverzeichnis	3
2. Zugrundeliegende Originalarbeit (in englischer Sprache)	5
3. Abstract (in deutscher Sprache)	15
Zusammenfassung	
4. Einleitung	16
4.1. Die Anfänge der Transplantationsimmunologie	18
4.2. Pathophysiologische Grundlagen der Abstoßungsreaktionen	19
4.3. Diagnose der Abstoßungsreaktionen	20
4.4. Zellulärer Abstoßungsmechanismus	20
4.5. Humoraler Abstoßungsmechanismus	21
4.6. Chronisch-humorale (antikörpervermittelte) Rejektion (CHR)	22
4.7. Therapieoptionen der CHR	24
4.8. Kaninchen Anti-Human-Thymozyten-Immunglobulin (rATG)	25
5. Patienten und Methoden	28
5.1. Patienten	28
5.2. Nierenfunktion	28
5.3. Blutbild	29
5.4. Infektionen	29
5.5. Summe der HLA-Mismatches (MM) zur Gewebetypisierung	29
5.6. Quantität der Immunisierung des Empfängers mit präformierten Antikörpern	30
5.7. Monitoring Donor-spezifischer Antikörper	30
5.8. Nierenbiopsie	31
6. Ergebnisse	33
6.1. Patienten	33
6.2. Immunsuppressive Therapie	34
6.3. Diagnose der chronisch-humoralen (antikörpervermittelten) Rejektion und Therapie	34
6.4. Donor-spezifische Antikörper	36
6.5. Transplantatfunktion	37
6.6. Verträglichkeit des rATG	38
7. Diskussion	39
8. Schlussfolgerung	44

9. Zusammenfassung	45
10. Literaturverzeichnis	47
11. Lebenslauf	58
12. Erklärung nach § 2 Abs. 2 Nr. 6 und 7 PromO	59
13. Danksagung	60

Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anzahl postmortalen Organspender in Deutschland in den Jahren 2008 bis 2017 (mit Einverständnis basierend auf den Eurotransplant Statistic Report 2017)	16
Tabelle 1: Kriterien zur Diagnose der chronisch-humoralen (antikörpervermittelten) Rejektion nach der Banff-Klassifikation (2013)	31
Abbildung 2: MFI-Werte zum Zeitpunkt der CHR-Diagnose (präATG) und nach rATG-Gabe (postATG)	37

1. Abkürzungsverzeichnis

APC	<i>Antigen-Presenting Cell</i>
BLyS	<i>B-Lymphocyte Stimulator</i>
BMI	Body-Maß-Index
BSA	<i>Body Surface Area</i>
CD	<i>Cluster Of Differentiation</i>
CDC	<i>Complement-Dependent Cytotoxicity</i>
CHR	Chronisch-Humorale (antikörpervermittelte) Rejektion
CMV	Cytomegalievirus
CNI	Calcineurininhibitor
CsA	Cyclosporin A
CTL	Zytotoxische T-Lymphozyten
DNA	<i>Desoxyribonucleic Acid</i>
dnDSA	De Novo Donor-Spezifische Antikörper
DSA	Donor-Spezifische Antikörper
EBV	Epstein-Barr Virus
eGFR	<i>Estimated</i> (geschätzte) Glomeruläre Filtrationsrate
ENDAT	<i>Endothelial Activation And Injury Transcript</i>
FSGS	Fokal Segmentale Glomerulosklerose
HLA	Humane Leukozyten Antigen
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IVIG	Intravenöses Immunglobulin
KfH	ursprünglich: Kuratorium für Hemodialyse heute: Kuratorium für Dialyse und Nierentransplantation
LCT	Lymphozytoxizitätstest
MFI	Mittlere Fluoreszenzintensität
MHH	Medizinische Hochschule Hannover
MM	<i>Mismatch</i>
mTOR	<i>Mechanistic Target of Rapamycin</i>
NAPRTCS	<i>North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies</i>
NK	Natürliche Killerzellen

ONT	<i>Organización Nacional De Trasplantes</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PRA	<i>Panel Reactive Antibody</i>
rATG	<i>Rabbit Anti-human-Thymocyte-Immunoglobulin</i>
SSP	Sequenz Spezifische Primer
TNF	Tumornekrosefaktor
USRDS	<i>United States Renal Data Systems</i>
UV	Ultraviolettstrahlung



Rabbit anti-human thymocyte immunoglobulin for the rescue treatment of chronic antibody-mediated rejection after pediatric kidney transplantation

Yasemen Cihan¹ · Nele Kanzelmeyer¹ · Jens Drube¹ · Martin Kreuzer¹ · Christian Lerch¹ · Imke Hennies¹ · Kerstin Froede¹ · Murielle Verboom² · Thurid Ahlenstiel-Grunow¹ · Lars Pape¹

Received: 3 May 2017 / Revised: 29 May 2017 / Accepted: 12 June 2017
© IPNA 2017

Abstract

Background Chronic antibody-mediated rejection (cAMR) is the leading cause of late kidney graft loss, but current therapies are often ineffective. Rabbit anti-human thymocyte immunoglobulin (rATG) may be helpful, but its use is virtually undocumented.

Methods Data were analyzed retrospectively from nine pediatric kidney transplant patients with cAMR were treated with rATG (1.5 mg/kg × 5 days) at our center after non-response to pulsed prednisolone, intravenous immunoglobulin, rituximab, and increased immunosuppressive intensity (including switching to belatacept in some cases), with or without bortezomib.

Results The median time from diagnosis to cAMR was 179 days. rATG was started 5–741 days after diagnosis. Median estimated glomerular filtration rate (eGFR) increased from 40 mL/min/1.73 m² when rATG was started to 62 mL/min/1.73 m² 9 months later ($p = 0.039$). Four patients showed substantially higher eGFR after 9 months and 2 patients showed a small improvement; eGFR continued to decline in 3 patients after starting rATG. No grafts were lost during follow-up. At last follow-up, donor-specific antibodies (DSAs) were no longer detectable in 4 out of 8 patients for whom data were available, median fluorescence intensity had decreased substantially in 1 out of 8 patients; anti-HLA DQ DSAs persisted in 2 out of

8 patients. No adverse events with a suspected relation to rATG, including allergic reactions, leukocytopenia or infections, were observed in any of the patients.

Conclusions In this small series of patients, rATG appears a promising treatment for unresponsive cAMR. Further evaluation, including earlier introduction of rATG, is warranted.

Keywords Antibody-mediated rejection · DSA · Rabbit anti-thymocyte immunoglobulin · ATG · rATG · Thymoglobulin

Introduction

The key role of antibodies in the immunological response to organ transplantation, which has been neglected for decades, has recently become more fully appreciated. Development of antibodies against alloantigens is central to the effector mechanisms of the adaptive immune system, and can culminate in chronic antibody-mediated rejection (cAMR) [1]. cAMR can follow a variable clinical course, with either subclinical or clinically evident proteinuria and gradual loss of graft function over several years [2, 3], but 15–20% of adult kidney grafts fail within the first year after diagnosis of AMR [4] and it is the leading cause of late kidney graft loss [5, 6]. The North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies reported in 2014 that 50.7% of all graft failures are caused by rejection, with chronic rejection accounting for 35.8% of these failures, and it is likely that many of these were in fact AMR [7]. Data on the frequency of cAMR in children are lacking, but their relatively naïve immune system could potentially place them at even greater risk, compounded in adolescents by a high risk for non-adherence to the immunosuppressive regimen [8].

Yasemen Cihan and Nele Kanzelmeyer contributed equally to the study

✉ Lars Pape
pape.lars@mh-hannover.de

¹ Department of Pediatric Nephrology, Hannover Medical School, Hannover, Germany

² Department of Transfusion Medicine, Hannover Medical School, Hannover, Germany

Chronic AMR has a complex pathophysiology. Donor-specific antibodies (DSAs) against human leukocyte antigen (HLA) play a central role in chronic graft deterioration [9], and post-transplant development of DSAs is associated with a higher risk for AMR and graft loss in adults [9, 10] and children [11]. cAMR is notoriously difficult to treat, particularly once it has progressed to transplant glomerulopathy, and few controlled studies have been conducted in this area [12]. In addition to maintaining or increasing the intensity of maintenance immunosuppression, treatment is aimed at eliminating the antibodies (notably DSAs) that have induced AMR and, second, to inhibit production of further antibodies by targeting of B-cells and plasma cells (the source of DSAs). A further approach is to inhibit the complement cascade. Removal of circulating DSAs is typically attempted using intravenous immunoglobulin G (IVIg) [13]. The addition of plasmapheresis, or immunoadsorption in the event of nonresponse to plasmapheresis, can be helpful. Randomized controlled trials in adults have shown that plasmapheresis removes 50% of antibodies, but rebound occurs and administration of IVIg increases response rate to 50–90% [14, 15]. However, extracorporeal therapy is a therapeutic challenge in small children. To deplete B-cells, the chimeric monoclonal anti-CD20 antibody rituximab is an established option for refractory AMR [6] but CD20-negative plasma cells are unaffected. Where cAMR does not respond to depletion agents, newer agents such as plasma-derived C1 esterase inhibitor [16] and the anti-interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab [17] have shown promising results.

Rabbit anti-human thymocyte immunoglobulin (rATG) has a well-established role in induction therapy, but some centers also use rATG to suppress antibody production after diagnosis of cAMR following kidney [13] or heart [18] transplantation. In recent years, it has been recognized that rATG not only depletes T-cells—including the helper T-cells required to elicit a B-cell response to antibodies—but may also suppress memory and switch memory B-cell subpopulations [19–23]. The use of rATG to treat cAMR, however, is based only on tangential evidence from prophylactic applications: namely, that it prevents production of DSAs de novo post-transplant [24] and that it contributes to the effectiveness of pre-transplant desensitization protocols [25].

To our knowledge, experience of treating cAMR with rATG is virtually undocumented. We report here a retrospective analysis of nine pediatric kidney transplant patients in whom rATG was given at our center after a poor response to other therapeutic options.

Materials and methods

This was a retrospective review of cases from a single center (Department of Pediatric Nephrology, Hannover Medical

School, Germany). Cases were identified from all patients who regularly attended the pediatric nephrology outpatient department between 2006 and 2016. Data were collected from medical records. As each case was classified as an “individual healing attempt” according to German law, no ethics approval was required.

During the study period, all patients received basiliximab induction therapy. The initial maintenance regimen comprised cyclosporine (CsA) with prednisolone. At week 4 post-transplant, the CsA trough concentration was halved and everolimus was started. If protocol biopsy at month 6 showed normal histology, prednisolone was tapered and discontinued [26]. Details of the immunosuppressive regimen, including dosing and target concentrations, have been published previously [27].

The panel reactive antibody (PRA) value was defined as the percentage of panel cells that reacted with patient serum in the complement-dependent cytotoxicity screening. HLA matches were calculated for the loci HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR, and HLA-DQ at the time of organ allocation. For high-resolution typing, CTS-Sequence kits (Heidelberg, Germany) and Olerup-SSP kits (Saltsjöbaden, Sweden) were used. HLA antibodies were measured before engraftment and at least annually post-transplant, or if the glomerular filtration rate (GFR) decreased by more than 20% from baseline. Measurements were made using the LABScreen single-antigen beads Luminex kit (One Lambda, Canoga Park, CA, USA) which uses single HLA-coated beads and enables identification of IgG alloantibody specificities against HLA-A, -B, -C, -DRB1/3/4/5, -DQA1, -DQB1, -DPA1, and -DPB1 antigens. Because no clinically validated cut-off for the Luminex assay is recommended by the provider company, a mean fluorescence intensity of >1,000 was used to define the cut-off for antibody positivity as this appears to be predictive for adverse outcomes, including cAMR, following kidney transplantation [28–30]. Renal biopsy was performed if a patient was positive for DSAs according to this definition, and if estimated glomerular filtration rate (eGFR) decreased by >20%. cAMR was diagnosed according to the Banff 2013 criteria, combining pathological diagnosis and evidence for DSAs [31]. If cAMR was diagnosed, the initial treatment was six pulses of prednisolone (6 pulses of 300 mg/m² body surface area [BSA]), weekly courses of IVIg starting on day 2 (1 g/kg × 4 doses), and between one and four monthly infusions of rituximab starting on day 6 (375 mg/m² BSA), as described by Billing et al. [32]. If serum creatinine increased rapidly, the patient was given six sessions of immunoadsorption. If the patient had low trough concentrations of everolimus (<4 µg/l) or CsA (<60 mg/l) the dose was increased and, in steroid-free patients, prednisolone was re-started at a dose of 3 mg/m² BSA. If trough concentrations of everolimus and CsA were adequate, CsA was changed to tacrolimus (trough concentration 8–10 mg/l) and/or everolimus was changed to mycophenolate mofetil (MMF). In cases

of non-adherence to the calcineurin inhibitor (CNI) regimen—considered a likely cause of DSA development—patients were switched from CNI therapy to belatacept (with everolimus) if the patient agreed to continuous intravenous therapy [33]. Adherence was assessed by a combination of self-reporting and physician assessment. If graft function did not improve and the mean fluorescence values of DSAs did not decline in response to these interventions, bortezomib therapy was applied, as described by Walsh et al. [34]. Where graft function still showed progressive deterioration, or where the response was considered inadequate, rATG (Thymoglobulin®) was administered via a peripheral line at a dose of 1.5 mg/kg over 4 h for 5 consecutive days (total dose 7.5 mg/kg).

Renal function was assessed by eGFR using the Schwartz formula [35]. The ratio of urinary albumin/creatinine was measured as a marker for proteinuria. Renal data are reported for the 9 months before diagnosis of cAMR, at the time of cAMR diagnosis and the time of rATG introduction, and for the 9 months after start of rATG therapy. Data are shown only for post-transplant measurements, and thus 9 months of pre-rATG values are not included if cAMR was diagnosed less than 9 months after transplantation. Available data were too sparse for meaningful analysis at later time points, i.e., beyond 9 months.

Every 3 months, patients were monitored for Epstein–Barr virus (EBV), cytomegalovirus, and BK polyomas virus by polymer chain reaction (LightCycler®; Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). Full blood counts were performed daily for 1 week post-transplant, then every 2 weeks. CD3 counts were not monitored.

As data were not normally distributed, results are primarily presented as median values and ranges. Mean values and standard variations were also determined. Statistical analysis was performed using the Mann–Whitney *U* test and $p < 0.05$ was defined as significant.

Results

Patient population and immunosuppression

Nine patients were assessed (3 female, 6 male), all of whom had received a first kidney transplant. Two patients received a living-donor graft (patients #2 and #6; patient #6 was transplanted pre-emptively). Key characteristics are shown in Table 1. All patients were followed for 9 months after the start of rATG therapy. All patients received induction with basiliximab, with an initial maintenance regimen comprising CsA and steroids. All patients were switched to low-exposure CNI therapy with CsA and everolimus at week 4 post-transplant (Table 2). In 1 patient, CsA was later switched to extended-release tacrolimus because of an episode of acute

cellular rejection; the same patient was converted from everolimus to sirolimus to enable once-daily administration.

Diagnosis and management of cAMR

The median time between transplantation and diagnosis of cAMR was 179 days. Patients were a median age of 14.7 years at the time of diagnosis (Table 1). The pathological findings confirming diagnosis of active cAMR are summarized in Table 3. None of the patients underwent a repeat biopsy. Thrombotic microangiopathy was excluded in each case based on findings from clinically-indicated biopsies. In patients #4, #8, and #6, cellular rejection of BANFF grade Ia was also diagnosed, with cellular rejection BANFF grade Ib in patient #9. One patient (#8) did not fully meet the Banff 2013 criteria, as Luminex testing of DSAs was not available at the time of diagnosis. All 9 patients received pulsed prednisolone, four IVIG infusions, and rituximab. Additionally, 2 patients (#1 and #8) received immunoadsorption and bortezomib was given to 8 patients (all except patient #8, in whom post-transplant Luminex data on DSAs were unavailable).

Following diagnosis of cAMR, the immunosuppression regimen was modified in a tailored manner, by increasing CNI exposure or switching to tacrolimus, increasing mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitor exposure or, less frequently, introducing MMF (Table 2). Three patients (#2, #4, and #5) switched from CNI therapy to belatacept, all with everolimus. All 3 patients were considered non-adherent, and were EBV IgG-positive. The remaining 6 patients (patients #1, #3, #6, #7, #8, and #9) were considered to be adequately adherent to the immunosuppressive regimen.

Before the introduction of rATG, these interventions led to an improvement in eGFR in 3 patients (#4, #5, and #9), whereas eGFR continued to deteriorate in the other 6 patients. However, as the improvement in eGFR was only moderate in patients #4, #5, and #9, the decision was made to initiate rATG therapy in all cases. All patients received the planned five doses (total dose 7.5 mg/kg). The delay between diagnosis of cAMR and introduction of rATG ranged from 5 days to 741 days (Table 1). All patients received the full cumulative dose of rATG (7.5 mg/kg).

Donor-specific antibodies

None of the patients had pre-formed DSAs against HLA at the time of transplantation. At the time of cAMR diagnosis, 5 patients had DSAs against HLA-DQ, 1 against HLA-A, 1 against HLA-B, and 1 against both HLA-DQ and HLA-A (Table 1). At last follow-up, DSAs were no longer detectable in 4 patients. The median fluorescence intensity (MFI) level remained largely unchanged in 3 patients (#1, #3, and #7), all of whom had anti-HLA-DQ DSAs, and decreased to a clinically relevant extent [36] in 1 patient (#4; Table 1).

Table 1 Patient characteristics, treatment, and donor-specific antibodies (DSAs) status

Patient	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9
Gender	Female	Male	Female	Male	Male	Male	Female	Male	Male
Weight, kg	40.1	45.7	5.3	116.5	45.0	52.4	8.7	40.0	55.9
Primary disease leading to end-stage renal disease	Bartter-Syndrome	Cat Eye Syndrome	ARPKD	Renal dysplasia	Denys-Drash syndrome	Joubert Syndrome	Atypical HUS	FSGS	Renal dysplasia
Donor type	DD	LD	DD	DD	DD	LD	DD	DD	DD
Donor age, years	41	35	7	6	3	46	20	52	2
HLA mismatches, <i>n</i>	5	5	8	6	4	3	4	2	7
PRA at time of transplant, %	16	73	9	6	0	0	55	0	0
Age at diagnosis of cAMR, years	14.7	15.5	3.0	15.6	15.3	14.4	1.8	12.5	14.0
eGFR at diagnosis of cAMR, mL/min/1.73 m ²	54	67	57	40	28	64	47	45	48
Time from transplant to diagnosis of cAMR, days	407	179	871	61	72	761	4469	25	101
Treatment before start of rATG	Pulsed prednisolone IVIG × 4 Rituximab × 4 Immunoadsorption Bortezomib	Pulsed prednisolone IVIG × 4 Rituximab × 4 Bortezomib	Pulsed prednisolone IVIG × 4 Rituximab × 4 Bortezomib	Pulsed prednisolone IVIG × 4 Rituximab × 4 Bortezomib	Pulsed prednisolone IVIG × 4 Rituximab × 4 Bortezomib	Pulsed prednisolone IVIG × 4 Rituximab × 4 Bortezomib	Pulsed prednisolone IVIG × 4 Rituximab × 4 Bortezomib	Pulsed prednisolone IVIG × 4 Rituximab × 4 Bortezomib	Pulsed prednisolone IVIG × 4 Rituximab × 4 Bortezomib
Time from transplant to start of rATG, days	469	214	1,020	90	163	923	4,828	766	106
De novo DSAs (MFI) ^a	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
Time of treatment	DQ7 (MFI 20006)	A23 (MFI 11474), A24 (9229), DQ2 (MFI 3535)	DQ6 (MFI 6692)	DQ5 (MFI 20020)	A29 (MFI 1961)	B60 (MFI 1556)	DQ3 (MFI 1556)	DQ5 (MFI 9624)	DQ5 (MFI 3562)
Time of cAMR diagnosis	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Luminex data not available	Luminex data not available
Last follow-up after rATG	DQ7 (MFI 18705)	Negative	DQ2 (MFI 11306)	DQ5 (MFI 1561)	Negative	Negative	DQ3 (MFI 7777)	Luminex data not available	Luminex data not available

ARPKD autosomal recessive polycystic kidney disease, cAMR chronic antibody-mediated rejection, DD deceased donor, DSAs donor-specific antibodies, eGFR estimated glomerular filtration rate, FSGS focal segmental glomerulosclerosis, HLA human leukocyte antigen, HUS hemolytic-uremic syndrome, IVIG intravenous immunoglobulin G, LD living donor, MFI median fluorescence intensity, PRA panel reactive antibodies, rATG rabbit antithymocyte globulin.

^aBased on the most recent assessment before the event

Table 2 Maintenance immunosuppression

Patient	#1	#2 ^a	#3	#4 ^a	#5 ^a	#6	#7	#8	#9
CNI trough concentration, ng/mL									
Time of transplant	CsA 211	CsA 125	CsA 165	CsA 95	CsA 230	CsA 148	CsA 244	CsA 197	CsA 239
Time of cAMR diagnosis	CsA 37	CsA 53	TAC 9.2	CsA 57	CsA 52	CsA 75	CsA 75	CsA 68	CsA 82
Time of rATG initiation	CsA 62	CsA 52	TAC 4.5	TAC 7.8	CsA 65	TAC 7.8	TAC 8.0	CsA 78	CsA 69
Month 9 after rATG	TAC 8.9	–	TAC 2.9	–	–	–	TAC 6.0	TAC 13.3	CsA 35
mTOR inhibitor concentration, ng/mL									
Time of transplant	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Time of cAMR diagnosis	EVR 2.3	EVR 3.2	EVR 4.2	EVR 7.1	–	EVR 3.6	–	SIR 2.6	EVR 2.7
Time of rATG initiation	EVR 3.4	EVR 6.0	EVR 6.8	EVR 9.8	EVR 7.9	EVR 3.3	–	SIR 5.5	EVR 2.8
Month 9 after rATG	–	–	EVR 3.8	EVR 5.4	EVR 8.1	EVR 5.2	–	SIR 9.3	EVR 2.2
MMF dose, g/day									
Time of transplant	–	–	–	–	–	–	0.5	0.5	–
Time of cAMR diagnosis	–	–	–	–	2.0	–	–	–	–
Time of rATG initiation	–	–	–	–	2.0	–	–	–	–
Month 9 after rATG	1.5	–	–	–	2.0	–	–	–	–
Steroids, mg/day									
Time of transplant	20	17.5	15	50	17.5	25	15	15	25
Time of cAMR diagnosis	10	5	2.5	7.5	5	5	5	15	5
Time of rATG initiation	10	5	2.5	7.5	5	5	5	12.5	5
Month 9 after rATG	20	5	2.5	7.5	5	5	5	10	5

BAS basiliximab, cAMR chronic antibody, CNI calcineurin inhibitor, CsA cyclosporine, EVR everolimus, MMF mycophenolate mofetil, mTOR mammalian target of rapamycin, rATG rabbit antithymocyte globulin, SIR sirolimus, TAC tacrolimus

^a Patients #2, #4, and #5 received belatacept with everolimus (CNI therapy was discontinued) owing to non-adherence to CNI therapy

Graft function

Median eGFR declined from 100 (range 57–126) mL/min/1.73 m² at 9 months before the cAMR diagnosis to 48 mL/min/1.73 m² at the time of diagnosis, with a subsequent decrease to 40 (range 17–57) mL/min/1.73 m² at the point of rATG introduction (Fig. 1). Over the 9 months following rATG initiation, it increased progressively to 62 (range 13–87) mL/min/1.73 m² ($p = 0.039$ versus time of rATG

introduction). Four patients (#4, #5 #8, and #9) showed substantial recovery of eGFR (increasing by between 28 and 41 mL/min/1.73 m²) and 2 patients showed a small improvement (#3 [10 mL/min/1.73 m²], #6 [7 mL/min/1.73 m²; Fig. 2). Three patients continued to show deteriorating renal function after rATG introduction (#1: 36 to 30 mL/min/1.73 m²; #2: 48 to 21 mL/min/1.73 m²; #7: 27 to 13 mL/min/1.73 m²). eGFR values in these 3 patients at the time of cAMR diagnosis were not lower than in the other patients (Fig. 1, Table 1).

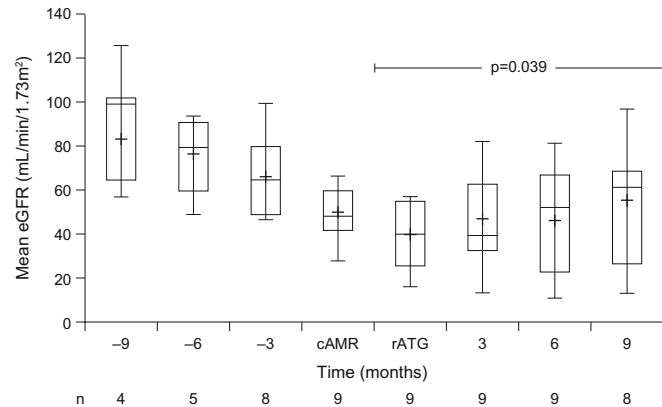
Table 3 Pathological evidence for chronic active antibody-mediated rejection according to the Banff 2013 criteria [22]

Patient	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9
Morphological evidence for chronic tissue injury									
Transplant glomerulopathy	0	0	3	0	0	0	3	1	0
Peritubular capillary basement membrane multilayering	2	2	0	1	1	3	2	0	2
New-onset arterial intimal fibrosis	2	0	1	1	3	1	1	2	0
Evidence for current/recent antibody interaction with vascular endothelium									
Linear C4d staining in peritubular capillaries	2	3	0	0	3	0	1	2	0
Microvascular inflammation	1	1	2	1	2	2	2	2	1

DSAs donor-specific antibodies, HLA human leukocyte antigen

0 absent, 1 mild, 2 moderate, 3 severe

Fig. 1 Estimated glomerular filtration rate (eGFR) during the 9 months before the diagnosis of chronic antibody-mediated rejection (cAMR) and 9 months after the introduction of rabbit antithymocyte globulin (rATG). Data are shown only for post-transplant measurements. Horizontal bars indicate median values; crosses indicate mean values; boxes indicate interquartile ranges; and whiskers indicate maximum and minimum values. If only two values were available, individual values are shown



Ratios of urinary albumin/creatinine showed no consistent pattern after the introduction of rATG. At time of cAMR diagnosis, values varied from <5 mg/mmol (patients #1, #4, #5, and #6) to >900 mg/mmol (patients #2 and #3). After the introduction of rATG, the ratio remained stable in 3 patients (#1, #6, and #7), decreased in 3 patients (#3, #5, and #8), and increased in 3 patients (#2, #4, and #9; Fig. 3). The median urinary albumin/creatinine ratio was 22.9 mg/mmol at the time of starting rATG and 13.5 mg/mmol at month 9 ($p = 0.29$).

No grafts were lost during follow-up and none of the patients required dialysis during the 9-month follow-up period after starting rATG.

Tolerability of rATG

No adverse events with a suspected association with rATG administration, including allergic reactions, leukocytopenia or hospitalization for severe infection (or hospitalization for any other reason), were observed in any of the patients. There

were no episodes of EBV, cytomegalovirus or BK polyomavirus infections in any of the patients during the observation period.

Discussion

The results presented here suggest that rATG might be a useful component of the armamentarium for treating cAMR. Current management of cAMR remains unsatisfactory, and no drugs are approved for its treatment. The conventional combination of IVIG and rituximab has largely been adopted based on its successful use in desensitizing highly sensitized patients before kidney transplantation [37]. New therapies have been investigated, including induction of plasma cell apoptosis by the proteasome inhibitor bortezomib, but this does not appear to reduce DSA levels when used as a monotherapy [38]. Novel agents, for example, the monoclonal anti-interleukin 6 receptor antibody [39] and C1 esterase inhibitor, have shown early promise [39], and the complement inhibitor eculizumab

Fig. 2 Individual values for the change in estimated glomerular filtration rate (eGFR) during the 9 months before the diagnosis of chronic antibody-mediated rejection (cAMR) and 9 months after the introduction of rabbit anti-human thymocyte globulin (rATG), with eGFR at the time of starting rATG as the reference point (zero). Median values are shown in black

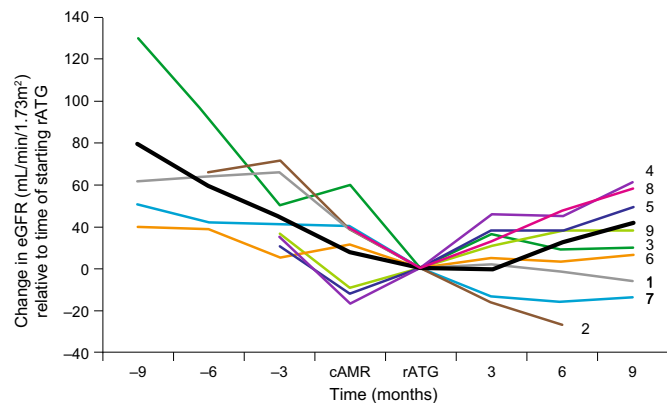
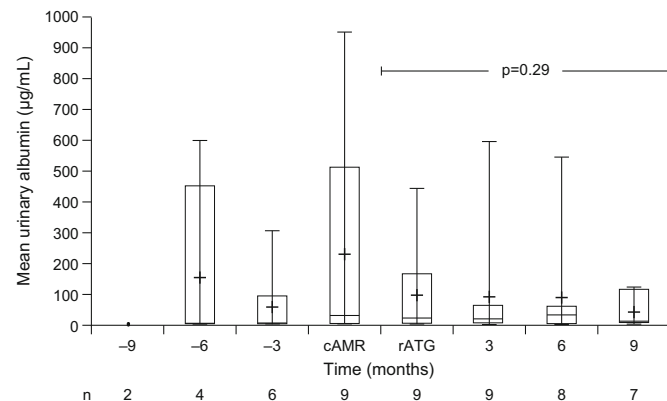


Fig. 3 Urinary albumin/creatinine ratio during the 9 months before the diagnosis of chronic antibody-mediated rejection (cAMR) and 9 months after the introduction of rabbit anti-human thymocyte globulin (rATG). Data are shown only for post-transplant measurements. Horizontal bars indicate median values; crosses indicate mean values; boxes indicate interquartile ranges; and whiskers indicate maximum and minimum values. If only two values were available, individual values are shown



[40] may potentially be helpful in patients with intensive activation of the terminal complement complex, but firm evidence is not yet available. Against this background, application of rATG—an agent familiar to the transplant community over many years of use—is of potential interest.

In this series of nine children with cAMR and declining renal function, the addition of a 5-day course of rATG as a rescue therapy was associated with a substantial improvement in graft function in 4 cases and a small improvement in a further 2 cases. The remaining 3 patients continued to deteriorate. Strikingly, the 4 patients in whom eGFR improved (#4, #5, #8, and #9) all had cAMR diagnosed within the first 4 months after transplantation; late-onset cAMR proved less responsive. In 4 of the 8 patients in whom post-transplant Luminex data were available, DSAs present at the time of cAMR diagnosis had become undetectable, and MFI values were reduced after the intensive combined immunosuppressive treatment in 1 further patient. The remaining 3 patients still had significant levels of anti-HLA-DQ DSA, which is often the dominant form of DSAs [41] and is frequently hard to eliminate. No consistent changes were detected concerning the ratio of urinary albumin to creatinine.

The key safety concerns related to rATG therapy—higher risk for malignancy or infection—have diminished substantially under modern dosing regimens [42, 43]. In our series, no leukocytopenia or thrombocytopenia was detected. Despite the intensive immunosuppressive regimens administered, none of the patients had to be hospitalized because of severe infections. rATG infusions were generally well-tolerated in our patients and the complete rATG course of five injections was administered as planned in all 9 children. Nevertheless, longer-term follow-up would be essential in future studies of rATG for the management of cAMR in children to monitor risks, particularly for post-transplant lymphoproliferative disorder.

This cohort represented a hard-to-treat group in whom a series of other interventions had failed to arrest the decline in graft function. Thus, although numbers are small, these results are highly encouraging. We did not initiate rATG earlier as the evidence base is inadequate. Future studies could usefully explore the earlier introduction of rATG, likely in combination with one or more other therapies such as rituximab. The 3 patients who continued to deteriorate despite rATG therapy, showed no distinguishing features compared with responders, although none had been diagnosed with cAMR early post-transplant. A longer-term goal would be to determine which cases of cAMR are most likely to respond to rATG therapy.

Immunologically, the addition of rATG to rituximab appears rational. rATG includes a wide range of T-cell and non-T-cell antigen specificities, including antibodies against B-cell, plasma cell, and natural killer (NK) cell markers [44, 45], and in vitro it induces complement-independent apoptosis of activation and naïve B-cells, and plasma cells [46]. Clinically, T-cells and NK cells are depleted under rATG administration [19–21]. NK cells are central to the inflammatory processes in the graft during AMR and their depletion may promote graft survival [47]. Mature B-cells and plasma cells remain unaffected by rATG in vivo [19–21], but CD19⁺CD27⁺ memory and switch memory B-cells appear to be selectively suppressed for a prolonged period when rATG is used in desensitization protocols or as induction before kidney transplantation [19–23]. It seems feasible that rATG might inhibit memory B-cells by suppressing the availability of antigen-specific helper T-cells. Rituximab, in contrast, depletes mature B-cells [21, 46], but is less effective at depleting memory B-cells [21, 48, 49]. The immunological effects of the two agents may thus be complementary for targeting B-cells and their antibodies in patients with AMR.

Published data relating to rATG treatment of AMR are remarkably sparse and to our knowledge limited to cases of

acute AMR, not cAMR. In one early study, published in 2004, a total of 27 patients with presumed acute AMR were treated with rituximab and plasmapheresis, with steroids in most cases, and 22 of the patients also received rATG [49]. Outcomes were good, with a death-censored graft survival rate of 89% after a mean of 605 days' follow-up [50]. Zheng et al. treated 4 adults with acute AMR using rATG monotherapy and concluded that mild or moderate AMR was ameliorated, but not cured [51]. Two other published case reports have described successful outcomes using rATG combined with eculizumab, plasmapheresis, and IVIG [52] or high-dose corticosteroids, IVIG, and plasmapheresis [53].

We recognize that this represents a small study population. This retrospective analysis has additional limitations. The group of patients was notably heterogeneous. There were wide variations in the time between diagnosis of cAMR and initiation of rATG, and the individualized treatment regimens prescribed before rATG therapy also differed between patients, for example, with or without the introduction of belatacept and/or bortezomib therapy, although all patients were treated with steroid pulses, rituximab, and intravenous immunoglobulins. Inevitably, this limits the strength of conclusions that can be drawn about the effects of rATG as a single agent. Bortezomib has been associated with a transient decrease in DSA levels when used to treat AMR in pediatric kidney transplant recipients [54, 55], which may have contributed to outcomes. Additionally, pre-implantation and surveillance biopsies, in addition to biopsies and measurement of DSA MFIs directly before and after rATG administration, would have provided useful information, but were not performed because of the retrospective nature of this study. Similarly, monitoring of T-cell and B-cell subsets would have been helpful. However, this small cohort is relatively typical of pediatric kidney transplant patients, including the high incidence of non-adherence, necessitating a switch in immunosuppression, which is a leading risk factor for the development of DSAs [56]. There was also extensive HLA mismatching (from 2 to 8 mismatches) in the group, characteristic of the problems of achieving good matches in pediatric recipients.

Nevertheless, the current series of patients represents the largest dataset so far regarding use of rATG to treat cAMR. Used here as rescue therapy after a poor response to a sequence of other interventions, rATG appears a promising component of the treatment regimen. In the absence of prospective or comparative analysis, these observations may help to inform treatment choices in this challenging situation, and suggest that rATG might be a viable option for managing cAMR. However, an important caveat is that all patients had previously received multiple interventions in response to the diagnosis of cAMR, and it is not possible to reliably disentangle the effect of rATG. Prospective trials are urgently required, designed specifically to examine the impact of rATG, with adequate follow-up for safety monitoring. Investigation into the

earlier introduction of rATG into the management of cAMR should also be carried out.

Compliance with ethical standards

Funding The study received no external funding. Medical writing support by a freelance medical writer was funded by Sanofi.

Ethics This retrospective study did not require ethical approval.

Conflicts of interest Lars Pape has received speaker's honoraria and travel grants from Novartis Pharmaceuticals. None of the other authors has any conflicts of interest to declare.

References

1. Clatworthy MR (2011) Targeting B cells and antibody in transplantation. *Am J Transplant* 11:1359–1367
2. Loupy A, Jordan SC (2013) Transplantation: donor-specific HLA antibodies and renal allograft failure. *Nat Rev Nephrol* 9:130–131
3. Fotheringham J, Angel C, Goodwin J, Harmer AW, McKane WS (2011) Natural history of proteinuria in renal transplant recipients developing de novo human leukocyte antigen antibodies. *Transplantation* 91:991–996
4. Sadaka B, Alloway RR, Woodle ES (2013) Management of antibody-mediated rejection in transplantation. *Surg Clin North Am* 93:1451–1466
5. Sellarés J, De Freitas DG, Mengel M, Reeve J, Einecke G, Sis B, Hidalgo LG, Famulski K, Matas A, Halloran PF (2012) Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *Am J Transplant* 12:388–399
6. El-Zoghby ZM, Stegall MD, Lager DJ, Kremers WK, Amer H, Gloor JM, Cosio FG (2009) Identifying specific causes of kidney allograft loss. *Am J Transplant* 9:527–535
7. NAPRTCS 2014 Annual Transplant Report. Available at <https://web.emmes.com/study/ped/annlrept/annualrept2014.pdf> Accessed 26 May 2017
8. Kreuzer M, Prüfe J, Oldhafer M, Bethe D, Dierks ML, Müther S, Thumfart J, Hoppe B, Büscher A, Rascher W, Hansen M, Pohl M, Kemper MJ, Drube J, Rieger S, John U, Taylan C, Dittrich K, Hollenbach S, Klaus G, Fehrenbach H, Kranz B, Montoya C, Lange-Sperandio B, Ruckebrodt B, Billing H, Staude H, Heindl-Rusai K, Brunkhorst R, Pape L (2015) Transitional care and adherence of adolescents and young adults after kidney transplantation in Germany and Austria: a binational observatory census within the TRANSNephro trial. *Medicine (Baltimore)* 94:e2196
9. Loupy A, Lefaucheur C, Vernerey D, Prugger C, Duong van Huyen JP, Mooney N, Suberbielle C, Frémeaux-Bacchi V, Méjean A, Desgrandchamps F, Anglicheau D, Nochy D, Charron D, Empana JP, Delahousse M, Legendre C, Glotz D, Hill GS, Zeevi A, Jouven X (2013) Complement-binding anti-HLA antibodies and kidney-allograft survival. *N Engl J Med* 369:1215–1226
10. Hourmant M, Cesbron-Gautier A, Terasaki PI, Mizutani K, Moreau A, Meurette A, Dantal J, Giral M, Blanco G, Cantarovich D, Karam G, Follea G, Souillou JP, Bignon JD (2005) Frequency and clinical implications of development of donor-specific and non-donor-specific HLA antibodies after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 16:2804–2812

11. Kim JJ, Balasubramanian R, Michaelides G, Wittenhagen P, Sebire NJ, Mamode N, Shaw O, Vaughan R, Marks SD (2014) The clinical spectrum of de novo donor-specific antibodies in pediatric renal transplant recipients. *Am J Transplant* 14:2350–2358
12. Djamali A, Kaufman DB, Ellis TM, Zhong W, Matas A, Samaniego M (2014) Diagnosis and management of antibody-mediated rejection: current status and novel approaches. *Am J Transplant* 14:255–271
13. Burton SA, Amir N, Asbury A, Lange A, Hardinger KL (2015) Treatment of antibody-mediated rejection in renal transplant patients: a clinical practice survey. *Clin Transpl* 29:118–123
14. Montgomery RA, Zachary AA, Racusen LC, Leffell MS, King KE, Burdick J, Maley WR, Ratner LE (2000) Plasmapheresis and intravenous immune globulin provides effective rescue therapy for refractory humoral rejection and allows kidneys to be successfully transplanted into cross-match-positive recipients. *Transplantation* 70:887–895
15. Rocha PN, Butterly DW, Greenberg A, Reddan DN, Tuttle-Newhall J, Collins BH, Kuo PC, Reinsmoen N, Fields T, Howell DN, Smith SR (2003) Beneficial effect of plasmapheresis and intravenous immunoglobulin on renal allograft survival of patients with acute humoral rejection. *Transplantation* 75:1490–1495
16. Montgomery RA, Orandi BJ, Racusen L, Jackson AM, Garonzik-Wang JM, Shah T, Woodle ES, Sommerer C, Fitts D, Rockick K, Zhang P, Uknis ME (2016) Plasma-derived C1 esterase inhibitor for acute antibody-mediated rejection following kidney transplantation: results of a randomized double-blind placebo-controlled pilot study. *Am J Transplant* 16:3468–3478
17. Choi J, Aubert O, Vo A, Loupy A, Haas M, Puliyaanda D, Kim I, Louie S, Kang A, Peng A, Kahwaji J, Reinsmoen N, Toyoda M, Jordan SC (2017) Assessment of tocilizumab (anti-interleukin-6 receptor monoclonal) as a potential treatment for chronic antibody-mediated rejection and transplant glomerulopathy in HLA-sensitized renal allograft recipients. *Am J Transplant*. doi: 10.1111/ajt.14228
18. Chih S, Tinckam KJ, Ross HJ (2013) A survey of current practice for antibody-mediated rejection in heart transplantation. *Am J Transplant* 13:1069–1074
19. Büchler M, Longuet H, Lemoine R, Herr F, Gatault P, Thibault G, Temant D, Foulon C, Pilorge B, Lemay D, Sung C, Halimi JM, Baron C, Lebranchu Y (2013) Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies of two different rabbit antithymocyte globulin dosing regimens: results of a randomized trial. *Transpl Immunol* 28:120–126
20. Kho MM, Bouvy AP, Cadogan M, Kraaijeveld R, Baan CC, Weimar W (2012) The effect of low and ultra-low dosages Thymoglobulin on peripheral T, B and NK cells in kidney transplant recipients. *Transpl Immunol* 26:186–190
21. Ramos EJ, Pollinger HS, Stegall MD, Gloor JM, Dogan A, Grande JP (2007) The effect of desensitization protocols on human splenic B-cell populations in vivo. *Am J Transplant* 7:402–407
22. Pankewycz O, Leca N, Kohli R, Wallace PK, Said M, Feng L, Alnimri M, Patel S, Laftavi MR (2011) Low-dose rabbit antithymocyte globulin induction therapy results in prolonged selective lymphocyte depletion irrespective of maintenance immunosuppression. *Transplant Proc* 43:462–465
23. Gurkan S, Luan Y, Dhillon N, Allam SR, Montague T, Bromberg JS, Ames S, Lerner S, Ebcioğlu Z, Nair V, Dinavahi R, Sehgal V, Heeger P, Schroppel B, Murphy B (2010) Immune reconstitution following rabbit antithymocyte globulin. *Am J Transplant* 10:2132–2141
24. Brokhof MM, Sollinger HW, Hager DR, Muth BL, Pirsch JD, Fernandez LA, Bellingham JM, Mezrich JD, Foley DP, D'Alessandro AM, Odorico JS, Mohamed MA, Vidyasagar V, Ellis TM, Kaufman DB, Djamali A (2014) Antithymocyte globulin is associated with a lower incidence of de novo donor-specific antibodies in moderately sensitized renal transplant recipients. *Transplantation* 97:612–617
25. Pascual J, Zuckermann A, Djamali A, Hertig A, Naesens M (2016) Rabbit antithymocyte globulin and donor-specific antibodies in kidney transplantation—a review. *Transplant Rev (Orlando)* 30:85–91
26. Pape L, Lehner F, Blume C, Ahlenstiel T (2011) Pediatric kidney transplantation followed by de novo therapy with everolimus, low-dose cyclosporine a, and steroid elimination: 3-year data. *Transplantation* 92:658–662
27. Pape L, Offner G, Kreuzer M, Froede K, Drube J, Kanzelmeyer N, Ehrlich JH, Ahlenstiel T (2010) De novo therapy with everolimus, low-dose cyclosporine a, basiliximab and steroid elimination in pediatric kidney transplantation. *Am J Transplant* 10:2349–2354
28. Gupta A, Murillo D, Yarlagadda SG, Wang CJ, Nawabi A, Schmitt T, Brimacombe M, Bryan CF (2016) Donor-specific antibodies present at the time of kidney transplantation in immunologically unmodified patients increase the risk of acute rejection. *Transpl Immunol* 37:18–22
29. Malheiro J, Tafulo S, Dias L, Martins LS, Fonseca I, Beirão I, Castro-Henriques A, Cabrita A (2015) Analysis of preformed donor-specific anti-HLA antibodies characteristics for prediction of antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *Transpl Immunol* 32:66–71
30. Eskandary F, Bond G, Regele H, Kozakowski N, Kikić Z, Wahrmann M, Haslacher H, Oberbauer R, Ramassar V, Halloran P, Böhmig GA (2014) Late antibody-mediated rejection in a large prospective cross-sectional study of kidney allograft recipients—preliminary results of the screening phase of the BORTEJECT trial. *Clin Transpl* 2014:189–195
31. Haas M, Sis B, Racusen LC, Solez K, Glotz D, Colvin RB, Castro MC, David DS, David-Neto E, Bagnasco SM, Cendales LC, Cornell LD, Demetris AJ, Drachenberg CB, Farver CF, Farris AB 3rd, Gibson IW, Kraus E, Liapis H, Loupy A, Nickeleit V, Randhawa P, Rodriguez ER, Rush D, Smith RN, Tan CD, Wallace WD, Mengel M, Banff meeting report writing committee (2014) Banff 2013 meeting report: inclusion of c4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am J Transplant* 14:272–283
32. Billing H, Rieger S, Süsal C, Waldherr R, Opelz G, Wühl E, Tönshoff B (2012) IVIG and rituximab for treatment of chronic antibody-mediated rejection: a prospective study in paediatric renal transplantation with a 2-year follow-up. *Transplant Int* 5:1165–1173
33. Lerch C, Kanzelmeyer NK, Ahlenstiel-Grunow T, Froede K, Kreuzer M, Drube J, Verboom M, Pape L (2017) Belatacept after kidney transplantation in adolescents: a retrospective study. *Transpl Int* 30:494–501
34. Walsh RC, Alloway RR, Girnita AL, Woodle ES (2012) Proteasome inhibitor-based therapy for antibody-mediated rejection. *Kidney Int* 81:1067–1074
35. Schwartz GJ, Muñoz A, Schneider MF, Mak RH, Kaskel F, Warady BA, Furth SL (2009) New equations to estimate GFR in children with CKD. *J Am Soc Nephrol* 20:629–637
36. Reed RP, Zhang Z, Gebel H, Bray RA, Guleria I, Lunz J, Mohanakumar T, Nickerson P, Tambur AR, Zeevi A, Heeger PS, Gjertson D (2013) Comprehensive assessment and standardization of solid phase multiplex-bead arrays for the detection of antibodies to HLA. *Am J Transplant* 13:1859–1870
37. Vo AA, Lukovsky M, Toyoda M, Wang J, Reinsmoen NL, Lai CH, Peng A, Villicana R, Jordan SC (2008) Rituximab and intravenous immune globulin for desensitization during renal transplantation. *N Engl J Med* 359:242–251
38. Sberro-Soussan R, Zuber J, Suberbielle-Boissel C, Candon S, Martinez F, Snanoudj R, Rabant M, Pallet N, Nochy D, Anglicheau D, Leruez M, Loupy A, Therivet E, Hermine O, Legendre C (2010) Bortezomib as the sole post-renal

- transplantation desensitization agent does not decrease donor-specific anti-HLA antibodies. *Am J Transplant* 10:681–686
39. Haririan A (2015) Current status of the evaluation and management of antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 24:576–581
 40. Frémeaux-Bacchi V, Legendre CM (2015) The emerging role of complement inhibitors in transplantation. *Kidney Int* 88:967–973
 41. Tagliamacco A, Cioni M, Comoli P, Ramondetta M, Brambilla C, Trivelli A, Magnasco A, Biticchi R, Fontana I, Dulbecco P, Palombo D, Klersy C, Ghiggeri GM, Ginevri F, Cardillo M, Nocera A (2014) DQ molecules are the principal stimulators of de novo donor-specific antibodies in nonsensitized pediatric recipients receiving a first kidney transplant. *Transpl Int* 27:667–673
 42. Mohty M, Bacigalupo A, Saliba F, Zuckermann A, Morelon E, Lebranchu Y (2014) New directions for rabbit antithymocyte globulin (Thymoglobulin®) in solid organ transplants, stem cell transplants and autoimmunity. *Drugs* 74:1605–1634
 43. Hertig A, Zuckermann A (2015) Rabbit antithymocyte globulin induction and risk of post-transplant lymphoproliferative disease in adult and pediatric solid organ transplantation: an update. *Transpl Immunol* 32:179–1787
 44. Popow I, Leitner J, Grabmeier-Pfistershammer K, Majdic O, Zlabinger GJ, Kundi M, Steinberger P (2013) A comprehensive and quantitative analysis of the major specificities in rabbit antithymocyte globulin preparations. *Am J Transplant* 13:3103–3113
 45. Rebellato LM, Gross U, Verbanac KM, Thomas JM (1994) A comprehensive definition of the major antibody specificities in polyclonal rabbit antithymocyte globulin. *Transplantation* 57:685–694
 46. Zand MS, Vo T, Huggins J, Felgar R, Liesveld J, Pellegrin T, Bozorgzadeh A, Sanz I, Briggs BJ (2005) Polyclonal rabbit antithymocyte globulin triggers B-cell and plasma cell apoptosis by multiple pathways. *Transplantation* 79:1507–1515
 47. Kohei N, Tanaka T, Tanabe K, Masumori N, Dvorina N, Valujskikh A, Baldwin WM 3rd, Fairchild RL (2016) Natural killer cells play a critical role in mediating inflammation and graft failure during antibody-mediated rejection of kidney allografts. *Kidney Int* 89:1293–1306
 48. Kamburova EG, Koenen HJ, Borgman KJ, Ten Berge IJ, Joosten I, Hilbrands LB (2013) A single dose of rituximab does not deplete B cells in secondary lymphoid organs but alters phenotype and function. *Am J Transplant* 13:1503–1511
 49. Jackson AM, Kraus ES, Orandi BJ, Segev DL, Montgomery RA, Zachary AA (2015) A closer look at rituximab induction on HLA antibody rebound following HLA-incompatible kidney transplantation. *Kidney Int* 87:409–416
 50. Becker YT, Becker BN, Pirsch JD, Sollinger HW (2004) Rituximab a treatment for refractory kidney transplant rejection. *Am J Transplant* 4:996–1001
 51. Zheng J, Xue W, Qing X, Jing X, Hou J, Tian X, Guo Q, He X, Cai J (2014) Treatment of biopsy-proven acute antibody-mediated rejection using Thymoglobulin (ATG) monotherapy and a combination of rituximab, intravenous immunoglobulin, and plasmapheresis: lesson learned from primary experience. *Clin Transpl* 2014: 223–230
 52. Chehade H, Rotman S, Matter M, Girardin E, Aubert V, Pascual M (2015) Eculizumab to treat antibody-mediated rejection in a 7-year-old kidney transplant recipient. *Pediatrics* 132:e551–e555
 53. Kutzler HL, Ye X, Rochon C, Martin ST (2016) Administration of antithymocyte globulin (rabbit) to treat a severe, mixed rejection episode in a pregnant renal transplant recipient. *Pharmacotherapy* 36:e18–e22
 54. Kizilbash S, Claes D, Ashoor I, Chen A, Jandeska S, Matar RB, Misurac J, Sherbotie J, Twombly K, Verghese P (2017) Bortezomib in the treatment of antibody-mediated rejection in pediatric kidney transplant recipients: a multicenter Midwest Pediatric Nephrology Consortium study. *Pediatr Transplant* 21(3):e12873. doi:10.1111/ptr.12873
 55. Pearl MH, Nayak AB, Ettenger RB, Puliyaanda D, Palma Diaz MF, Zhang Q, Reed EF, Tsai TW (2016) Bortezomib may stabilize pediatric renal transplant recipients with antibody-mediated rejection. *Pediatr Nephrol* 31:1341–1348
 56. O’Leary JG, Samaniego M, Barrio MC, Potena L, Zeevi A, Djamali A, Cozzi E (2016) The influence of immunosuppressive agents on the risk of de novo donor-specific HLA antibody production in solid organ transplant recipients. *Transplantation* 100:39–53

3. Abstract (in deutscher Sprache)

Kaninchen Anti-Human-Thymozyten-Immunglobulin als Rescue-Therapie bei chronisch-humoraler (antikörpervermittelter) Rejektion nach pädiatrischer Nierentransplantation

Hintergrund: Die chronisch-humorale (antikörpervermittelte) Rejektion (CHR) ist die führende Ursache des späten Nierentransplantatverlustes. Aktuelle Therapieregime bleiben oftmals wirkungslos. Das Kaninchen Anti-Human-Thymozyten-Immunglobulin (rATG) könnte eine sinnvolle Therapieoption darstellen, jedoch ist der Einsatz für diese Indikation bisher nicht erfasst.

Methoden: Es erfolgte die retrospektive Analyse neun pädiatrischer Nierentransplantationspatienten mit CHR, die in unserem Zentrum mit rATG behandelt wurden, nachdem kombinierte Therapieversuche mit Prednisolon-Bolustherapien, intravenösem Immunglobulin, Rituximab sowie eine Erweiterung der Intensität der Immunsuppression mit oder ohne Bortezomib-Therapie zur Plasmazellreduktion (einschließlich der Umstellung auf Belatecept in einigen Fällen) erfolglos blieben.

Ergebnisse: Die mediane Dauer von der Nierentransplantation bis zu der Diagnose der CHR betrug 179 Tage. rATG wurde 5-741 Tage nach der Diagnose gegeben. Die mediane geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) stieg von 40 mL/min/1,73 m² zum Zeitpunkt der Initiierung des rATG auf 62 mL/min/1,73 m² 9 Monate nach rATG-Gabe (p=0,039) an. 4 Patienten zeigten nach 9 Monaten eine deutlich höhere eGFR und 2 Patienten zeigten eine leichte Verbesserung; Bei 3 Patienten fiel die eGFR nach rATG weiterhin ab. Während des Beobachtungszeitraumes kam es zu keinem Transplantatverlust. In der letzten Nachuntersuchung konnten bei 4 von 8 Patienten, von denen die Daten verfügbar waren, keine donorspezifischen Antikörper (DSA) mehr nachgewiesen werden, bei 1 von 8 Patienten war die mediane Fluoreszenzintensität deutlich gesunken; anti-HLA-DQ DSAs persistierten bei 2 der 8 Patienten. Es wurden keine unerwünschten Ereignisse, einschließlich allergische Reaktionen, Leukozytopenien und Infektionen bei den Patienten beobachtet, als deren Ursache die rATG-Gabe angenommen werden konnte.

Schlussfolgerung: In dieser kleinen Patientenkohorte scheint rATG eine aussichtsvolle Behandlungsoption therapieresistenter CHR darzustellen. Eine weitere Evaluation dieses Regimes, einschließlich eine frühere Einleitung der rATG-Therapie ist sinnvoll.

4. Einleitung

In Deutschland wurden im Jahr 2017 insgesamt 1.921 Nieren transplantiert, hiervon handelte es sich bei 557 Organen um Lebendspenden, die übrigen Organe wurden verstorbenen Organ Spendern entnommen [1]. Allerdings standen zum Ende desselbigen Jahres dieser Zahl weiterhin 10.663 Patienten, die auf ein Organ warteten, gegenüber [2].

Einer der Gründe für die unzureichende Versorgung der bei Eurotransplant gemeldeten Patienten stellt die mangelnde Bereitschaft der Bevölkerung für eine postmortale Organspende in den Verbundländern, zu denen neben Deutschland, Belgien, Kroatien, Luxemburg, Niederlande, Österreich, Slowenien und Ungarn gehören, dar. Insbesondere in Deutschland wurde im zurückliegenden Jahr ein Tiefstwert in der postmortalen Organspenderzahl erreicht [2, 3]. Während im Berichtsjahr 2008 die Organspenderzahl bundesweit bei 14,4 Spendern pro Million Einwohner lag, kamen im vergangenen Jahr 2017 lediglich 9,3 Spender auf eine Million Einwohner (Abbildung 1) [3]. Vergleichsweise verkündete die spanische Transplantationsorganisation (ONT) für das Jahr 2017 die weltweite Spitzenquote von 46,9 verstorbener Organspender pro Million Einwohner [4].

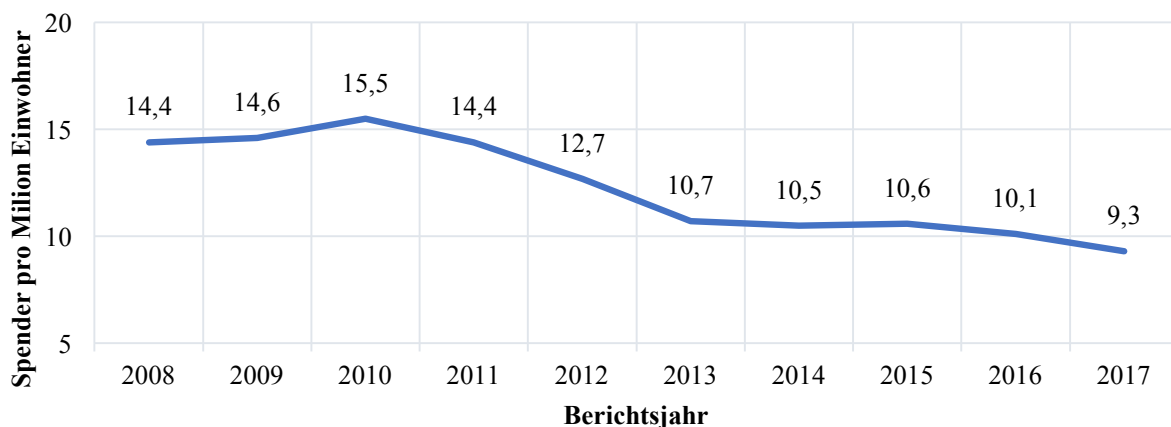


Abbildung 1: Anzahl postmortaler Organspender in Deutschland in den Jahren 2008 bis 2017 (mit Einverständnis basierend auf den Eurotransplant Statistic Report 2017 [3])

Vor allem für die Patienten der Pädiatrie mit einer terminalen Niereninsuffizienz hat die Zustimmung zur Organspende eine immense Bedeutung, da die frühzeitige Nierentransplantation insbesondere den Kindern und Jugendlichen die bestmögliche Therapieoption ermöglicht [5].

Die Organspende schützt die körperliche und psychische Entwicklung der jungen Patienten vor der toxischen Wirkung der Urämie und jeglichen Entitäten der Dialyseverfahren [5]. Ein weiterer essentieller Vorteil ist, dass die transplantierten Patienten im Vergleich zu den Kindern und Jugendlichen, die mit einem alternativen Nierenersatzverfahren behandelt werden, eine längere Lebenserwartung besitzen, welches die Daten aus dem Jahresbericht 2016 der United States Renal Data Systems (USRDS) bestätigen. Demnach hatten Kinder und Jugendliche, die im Jahr 2016 eine Nierentransplantation zur Therapie des chronischen Nierenversagens erhielten eine 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von 96 %, während der Wert für die Peritonealdialyse bei 83 % und für die Hämodialyse bei 81 % lag [6].

Eine zusätzliche Optimierung der Therapie kann durch eine präemptive Nierentransplantation erzielt werden. Erfolgt die Transplantation noch bevor die Dialysepflicht eintritt, wird eine bessere Transplantatüberlebensrate erwartet [7]. Aufgrund der fallenden Spenderressourcen ist eine solche Transplantation zumeist nur im Rahmen einer Lebendspende möglich. Laut der Daten des nordamerikanischen Nierentransplantationsregisters NAPRTCS (North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies) erhält nahezu jeder zweite pädiatrische Patient die Lebendnierenspende eines Elternteils oder nahestehenden Angehörigen, wovon wiederum etwa ein Drittel präemptiv transplantiert wird [8].

Obwohl im NAPRTCS-Jahresbericht von 2014 die Steigerung des Transplantationsüberlebens in den letzten drei Jahrzehnten mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 78,9% auf 83, 8% bei Lebendnierenspenden ($p < 0,001$) und von 62,4% auf 83% bei verstorbenen Nierenspenden ($p < 0,001$) bekannt gegeben wurde, handelt es sich bei 21,2 % der insgesamt transplantierten Nieren um Retransplantationen nach initial erfolgreicher Ersttransplantation [8]. Die Gefahr des Transplantatverlustes abzuwehren, hat für den behandelnden Transplantationsmediziner in Anbetracht des gegenwärtigen zunehmenden Organmangels höchste Priorität. Ziel ist es, dass in einem möglichst langen Lebensabschnitt durch die Optimierung der interdisziplinären Versorgung und Nachsorge, das Spenderorgan dem transplantierten Patienten komplikationslos erhalten bleibt.

Während der insgesamt positiven Entwicklung in der Transplantatüberlebensrate in den ersten Jahren nach Transplantation [8], kann in der Langzeitüberlebensrate der Nierentransplantate keine Verbesserung beobachtet werden [9].

Ursächlich hierfür ist, dass die akute Abstoßungsreaktion mit deren zellulären Immunmechanismen jahrzehntelang Gegenstand der Transplantationsforschung war und mit der Entwicklung evidenzbasierter, immunsuppressiver Therapieregimes sowohl seltener als auch besser behandelbar geworden ist [10, 11]. Währenddessen ist die chronische Abstoßung, die mit 35,8 % den häufigsten Grund für den Organverlust im NAPRCTS-Jahresbericht von 2014 präsentiert [8], bis zum heutigen Zeitpunkt weder pathophysiologisch vollständig verstanden noch standardisiert erfolgreich zu therapieren.

Traditionell wird unter dem Begriff der chronischen Abstoßung ein polyätiologisches Krankheitsbild verstanden. Jedoch stehen als treibende Kraft für den progressiven Organverlust im Langzeitverlauf Antikörper, welche die morphologischen Korrelate am Transplantat verantworten, im Fokus [12]. Daher fokussiert die vorliegende Arbeit primär die Beobachtungen, die an der chronisch-humoralen (antikörpervermittelten) Rejektion und deren anspruchsvollen Therapieoptionen gemacht wurden.

Im nachfolgenden Abschnitt werden zunächst die allgemeinen Grundlagen der Abstoßungsmechanismen besprochen. Anschließend soll die detaillierte Präzisierung der chronischen Abstoßung mit deren humoralem Aspekt und therapeutischen Möglichkeiten erfolgen.

4.1. Die Anfänge der Transplantationsimmunologie

Den ersten Meilenstein in der Geschichte der Transplantationsimmunologie setzten 1943 während des Zweiten Weltkrieges in Glasgow Dr. Thomas Gibson und Dr. Peter Brian Medawar, als sie mehrere einzelne Brandwunden einer jungen Patientin zu unterschiedlichen Zeitpunkten mit den Hautläppchen, die ihrem Bruder entnommen worden waren, deckten. Sie beobachteten, dass ein Homograft desselben Spenders bei der zeitlich verzögerten zweiten Transplantation wesentlich schneller abgestoßen wurde als der erste. Daraus deuteten sie, dass es während der ersten Transplantation zu einer Gedächtnisbildung im Empfängerorganismus gegen die körperfremden Antigene des Spenders gekommen sein muss [13].

Diese Feststellung nahm Medawar als Basis für seine Forschungen an die Oxford University mit, wo er an Tiermodellen mit Kaninchen seine Thesen zu der aktiven Immunisierung, die er selbst als ‚*second set*‘ Abstoßung beschrieb, unter kontrollierten Bedingungen untersuchte.

Jahre später sollte Herr Professor Medawar 1960 für die ‚Entdeckung der erworbenen immunologischen Toleranz‘ den Nobelpreis für Physiologie oder Medizin erhalten [14].

4.2. Pathophysiologische Grundlagen der Abstoßungsreaktionen

Im Wesentlichen basiert die Transplantatabstoßung darauf, dass sich Spender und Empfänger in ihren Haupthistokompatibilitätskomplexen (*engl. MHC = major histocompatibility complex*), welche mit einer Länge von etwa 4×10^6 Nukleotiden auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6 lokalisiert ist und die Genregion der Oberflächenproteine des humanen Leukozytenantigensystems (*engl. HLA = human leukocyte antigen*) darstellt, unterscheiden. In dieser Situation erkennen die Immunzellen des Empfängers die fremden HLA-Moleküle des Donors und initiieren die Alloimmunantwort, die zu einer Transplantatdestruktion führt [15].

Grundsätzlich wird zwischen zwei HLA-Molekülklassen differenziert. HLA-Moleküle der Klasse I (-A, -B, -C) werden auf allen kernhaltigen Zellen des Körpers exprimiert und präsentieren dem Immunsystem intrazellulär synthetisierte Peptide. Primär dient dieser Mechanismus der Infektabwehr des Organismus und der Bekämpfung maligne entarteter Zellen. Erregerspezifische und tumorassoziierte Antigene werden den CD8-positiven, zytotoxischen T-Lymphozyten (CTL) präsentiert, die anschließend die betroffenen Zellen lysieren [15]. Beispielsweise lässt sich dieses Phänomen bei Vitiligo Patienten nachweisen, die gegen das Tumorantigen gp100, welches auch auf gesunden Melanozyten exprimiert wird, eine antitumorale Immunantwort entwickeln, sodass durch Zerstörung der melaninhaltigen Zellen depigmentierte Hautareale imponieren [16].

HLA-Moleküle der Klasse II (-DP, -DQ, -DR) befinden sich ausschließlich auf antigenpräsentierenden Zellen (APC) wie B-Lymphozyten, Makrophagen oder dendritischen Zellen, welche extrazelluläre Antigene phagozytotisch internalisieren und nach proteolytischer Fragmentierung auf ihrer Zelloberfläche den CD4-positiven T-Helferzellen präsentieren. Erkennt die T-Helferzelle über ihren antigenspezifischen Rezeptor das präsentierte Antigen, erfolgt die nötige Kostimulation der B-Lymphozyten und es kommt zur Induktion der humoralen Immunantwort [15].

4.3. Diagnose der Abstoßungen

Die Diagnose der Abstoßung einer Transplantatniere wird seit Anfang der 90er Jahre nach erfolgter Biopsie anhand der Banff-Klassifikation gestellt. Alle zwei Jahre findet eine Aktualisierung der Klassifikation durch die Evaluation neuer Erkenntnisse durch ein Expertenteam, während der sogenannten Banff-Konferenz statt. Neben der Entscheidung über das Vorliegen einer Rejektion, wird indem glomeruläre, entzündliche, intersitielle, tubuläre und vaskuläre Veränderungen beurteilt werden, die Zuordnung des Befundes in eines der 6 Abstoßungskategorien vorgenommen [17, 18].

4.4. Zellulärer Abstoßungsmechanismus

Zur Fokussierung der Effektormechanismen kann zwischen zellulärer und humoraler Rejektion unterschieden werden.

Das Bild der zellulären Abstoßung als deren Korrelat die Banff-Kategorien 3 und 4 anzunehmen sind, wird geprägt von lymphozytären Infiltraten und Makrophagen, häufig in der Form einer klassischen Tubulitis und interstitiellen Entzündung [17]. Zeitlich ist mit dieser Form der Abstoßung am ehesten in den ersten drei Monaten nach Transplantation, jedoch seltener vor dem 5. postoperativen Tag zu rechnen. Grund hierfür ist, dass die nötigen immunologischen Prozesse selten in einer kürzeren Zeitdauer ablaufen [15, 17, 18].

Eines dieser Prozesse findet über die direkte Erkennung der allogenen HLA-Klasse I Moleküle auf Zellen des Spenders, den sogenannten *donor passenger leukocytes*, durch CD8-positive CTL über den spezifischen T- Zellrezeptor des Empfängers statt. Verstärkt durch die kostimulatorischen Signale CD80 und CD86 degranulieren zytotoxische Vesikel der CD8-positiven Zelle. Das freigesetzte Perforin bildet eine Pore in der Zielzelle durch die anschließend die Serinprotease Granzym in die Zielzelle eindringen kann und deren Apoptose induziert. Zusätzlich werden über Zytokine wie IFN- γ und TNF- α sowie den Fas (CD95) Liganden Signalkaskaden ausgelöst, die über intrazelluläre Todesdomänen (*engl. death domain*) die Kaspasen 8 und 10 aktivieren. Diese Aktivierung verursacht die DNA-Degradierung der Zielzelle und erhöht die Ca^{2+} -Permeabilität der Zellmembran, sodass es letztendlich zur Apoptose der Zielzelle kommt [19, 20].

Nach Transplantation fällt die Anzahl der *donor passanger leukocytes* kontinuierlich ab, sodass die Wahrscheinlichkeit über den direkten Weg eine zelluläre Abstoßung zu entwickeln mit der Zeitdauer, indem der Patient mit dem Transplantat lebt, abnimmt, sodass akute zelluläre Rejektionen häufiger beobachtet werden als chronische [21].

Alternativ kann die Aktivierung der CTL über den indirekten Weg durch die Präsentation des fragmentierten Donorantigens auf einem autologen HLA-Klasse II Molekül einer APC des Empfängers erfolgen. Die über den indirekten Weg aktivierten CD4-positive T-Helferlymphozyten triggern unter anderem über IL-2 die Expansion von B-Lymphozyten und deren Differenzierung zu Plasmazellen. Aufgrund dessen kann eine akute zelluläre Abstoßung als Risikofaktor für eine humorale Rejektion gewertet werden [19, 20].

Laborchemisch wird eine akute zelluläre Rejektion durch die Erhöhung der Retentionswerte apparent. Fakultativ kann zusätzlich eine Mikrohämaturie und Proteinurie bei einer begleitenden Glomerulitis vorliegen. Therapeutisch empfiehlt die KDIGO die Behandlung mit Kortikosteroiden. Bei Therapieresistenz wird Kaninchen Anti-Human-Thymozyten-Immunglobulin (rATG) eingesetzt [22]. Die Patienten sprechen gut auf die Therapie an, ein Transplantatverlust aufgrund einer akut zellulären Abstoßung ist selten [23].

4.5. Humoraler Abstoßungsmechanismus

Antikörpervermittelte Mechanismen werden vor allem für die chronische Transplantatabstoßung verantwortlich gemacht. Im Gegensatz zu der zellulären Rejektion spielt hier die indirekte Antigenerkennung eine tragende Rolle. Die Antigene des Transplantats werden von antigenpräsentierenden B-Lymphozyten des Empfängers aufgenommen und auf der HLA-Molekülklasse II über den antigenspezifischen T-Zellrezeptor von den CD4-positiven T-Helferzellen erkannt. Die aktivierten T-Helferzellen stimulieren die Differenzierung der Plasmazellen und die Produktion von Alloantikörpern. Da durch Proteolyse viele unterschiedliche Antigenfragmente entstehen, kumuliert ein großer Antikörperpool gegen verschiedene Epitope des Allografts (*sog. engl. epitope spreading*). Dieser Prozess verläuft selbstaugmentierend wie in einem Circulus vitiosus und persistiert selbst Jahre nach Transplantation [24, 15].

Sind die Alloantikörper des Empfängers spezifisch gegen die HLA-Merkmale des Spenders gerichtet, werden sie als donorspezifische Antikörper (DSA) bezeichnet. Ist der Empfänger vor

der Transplantation beispielweise durch Schwangerschaft oder Transfusion von Blutprodukten sensibilisiert worden, werden sogenannte präformierte DSA gebildet [15].

Im Jahre 1966 beschrieben Kissmeyer-Nielson und Olsen den Zusammenhang zwischen präformierten Antikörpern und der hyperakuten Abstoßung [25]. Diese geht mit fulminanten thrombotischen Gefäßverschlüssen und Nekrosen einher. 3 Jahre später 1969 bewies Paul Terasaki, dass präformierte DSA zu einem Transplantatverlust nach Nierentransplantation führen und etablierte zum Nachweis dieser den Lymphozytotoxizitätstest (LCT) [26]. Heute gehört der Crossmatch-Test in der CDC-Methode (*engl. „complement dependent cytotoxicity“*) zu den obligaten Vorbereitungsuntersuchungen vor der Transplantation. Patienten, bei denen präformierte DSA nachgewiesen werden, dürfen nur nach einer Desensibilisierungstherapie transplantiert werden, sodass hyperakute Abstoßungen selten geworden sind [27].

Im Gegensatz zu den präformierten DSA entstehen die *de novo* DSA (dnDSA) im Verlauf nach der Transplantation. Zusätzlich relevant in der Pathogenese der humoralen Immunantwort ist der Subtyp in der die Antikörper vorliegen. Da IgG und IgM zu der Komplementaktivierung befähigt sind, übernehmen sie eine Sonderstellung. Außerdem präsentieren diese die größte Immunglobulinfraktion im Serum [15].

4.6. Chronisch-humorale (antikörpervermittelte) Rejektion (CHR)

Die genaue Pathophysiologie der chronisch-humoralen (antikörpervermittelten) Rejektion (CHR) ist komplex und bis zur heutigen Zeit im Detail nicht vollständig verstanden. Fest steht jedoch, dass DSA eine zentrale Rolle in der chronischen Transplantatschädigung besitzen [28] und sowohl bei Erwachsenen als auch Kindern mit einem höheren Risiko für eine CHR sowie einen Transplantatverlust assoziiert sind [27-30].

Theoretisch induzieren die Antigen-DSA-Komplexe eine Komplementaktivierung auf den Endothelzellen des Transplantats. Der Endweg der Komplementkaskade mündet in der Entstehung des Membranangriffskomplexes (*engl. MAC = membran attack complex*) in der Zellmembran, sodass deren Zellintegrität durch Porenbildung gestört und letztlich die Apoptose eingeleitet wird. Zusätzlich induziert die Komplementkaskade inflammatorische Prozesse, die mit der Einwanderung von Entzündungszellen in den Allograft und deren Zerstörung einhergehen. Während der Komplementaktivierung entsteht das Komplementspaltprodukt C4d, deren

Funktion in der Immunologie nicht verstanden ist, jedoch deren Bindung kovalent an das Endothel in der Diagnostik als Indiz einer abgelaufenen Komplementaktivierung dient [31].

Nachdem im Jahr 2007 die C4d-Ablagerung als obligater Indikator für die CHR in die Banff-Klassifikation aufgenommen worden war [32], gehört sie seit der Aktualisierung im Jahre 2013 nur noch als fakultativer Marker zu den Diagnosekriterien [33]. Grund hierfür ist, dass in Studien nachgewiesen wurde, dass trotz positiver DSA und histopathologisch eindeutiger CHR der C4d-Nachweis in einigen Fällen ausblieb [34, 35]. Als Fazit wurden die C4d-negativen antikörpervermittelten Abstoßungen in dem revidierten Banff-Klassifikationssystem ergänzt [33]. Die Annahme der komplementunabhängigen humoralen Rejektionen wird von in-vivo Experimenten mit Mäusen an Herztransplantaten gestützt [36, 37]. Diese zeigen, dass eine komplementunabhängige Interaktion mit dem Endothel primär durch die DSA [36] oder durch die Aktivierung von Signalwegen [37] zur Zellschädigung führen kann. Als Korrelat dessen wurden Gene entdeckt, deren Transkripte molekulargenetisch in der Genexpressionsanalyse nachweisbar sind, wenn Endothelschäden vorliegen [38]. Eines dieser Marker ist ENDAT (*engl. „endothelial activation and injury transcript“*), welches ebenfalls in das Banff-Klassifikationssystem aufgenommen wurde [38, 39, 33].

Führende histopathologische Korrelate der CHR sind die chronische Transplantatglomerulopathie mit fakultativem Nachweis der C4d-Komplementfärbung an den Endothelien der peritubulären Kapillaren und die Transplantatvaskulopathie mit Intimafibrose, die von einer hypertensiven Nephropathie oder CNI-Toxizität bedingten Schädigung differenziert werden muss [33].

Klinisch äußert sich die CHR in variablen Manifestationsformen. Sowohl inapparente, subklinische Verläufe als auch solche mit Proteinurie und schleichendem Verlust der Transplantatfunktion über Jahre sind möglich [40, 41]. Bei 15-20 % der Fälle aus der Erwachsenenmedizin kommt es bereits innerhalb des ersten Jahres nach der CHR-Diagnose zu einem Transplantatverlust [42]. Daten über die Häufigkeit der CHR bei Kindern und Jugendlichen fehlen, jedoch ist anzunehmen, dass bedingt durch ihr relativ naives Immunsystem ein höheres Risiko vorliegt. Zusätzlich zeigen Analysen aus Deutschland und Österreich, dass die Wahrscheinlichkeit eines Transplantatverlustes durch den problematischen, diskontinuierlichen Übergang der Patienten,

während der Transition aus der Pädiatrischen Transplantationsmedizin in die Erwachsenenmedizin und durch die Non-Adhärenz zu dem immunsuppressiven Therapieregime potenziert wird [43].

4.7. Therapieoptionen in der CHR

Die Antirejektionstherapie der CHR gestaltet sich schwierig, zumal da nur wenige evidenzbasierte Ergebnisse zu dieser Thematik vorliegen. Viele Behandlungsversuche berufen sich auf kleine Fallserien und retrospektive Studien [44].

Der therapeutische Ansatz basiert auf der Intention, die Intensität der Immunsuppression aufrecht zu erhalten und gegebenenfalls zu verstärken. Zusätzlich sollen die Antikörper, insbesondere gezielt die DSA, welche die CHR induziert haben, beseitigt werden. Außerdem ist es Ziel, die Produktion von weiteren Antikörpern durch Modulation von B-Lymphozyten und Plasmazellen, die als Quelle der DSA agieren, zu hemmen. Ein weiterer Mechanismus ist die Hemmung der Komplementkaskade.

Zunächst erfolgt der Versuch der Elimination der zirkulierenden DSAs klassischerweise mit intravenösem Immunglobulin (IVIg) [45]. Bei Nichtansprechen stellen die Plasmapherese oder Immunadsorption ergänzende Therapieoptionen dar [46]. Randomisiert kontrollierte Studien aus der Erwachsenenmedizin zeigen, dass der alleinige Einsatz der Plasmapherese initial 50% der Antikörper erfolgreich entfernt, es jedoch im Verlauf zu einem erneuten Anstieg des Antikörpertiters kommt. Eine Kombination der Plasmapherese mit IVIg, welches zusätzlich immunmodulatorische Eigenschaften besitzt, erzielt ein höheres Ansprechen von 50-90% [46, 47]. Allerdings stellt die extrakorporale Therapie in der Kindernephrologie eine Herausforderung dar, da es sich um eine invasive Methode handelt, die mit schwerwiegenden Komplikationen wie Elektrolytentgleisungen, Hypotonie und einem erhöhten Blutungsrisiko aufgrund der Antikoagulation einhergehen kann und insbesondere bei kleinen Kindern aufgrund der notwendigen Gefäßzugänge schwierig durchzuführen ist [48].

Eine weitere Behandlungsoption ist der chimäre-monoklonale CD20-Antikörper Rituximab zur Depletion von B-Lymphozyten, der jedoch als alleiniges Therapeutikum keinen Einfluss auf die Plasmazellen besitzt und somit die Antikörperproduktion nur eingeschränkt beeinflusst [49].

In ihrer herausragenden prospektiven Studie an pädiatrischen Nierentransplantationspatienten mit CHR beobachteten Billing et al. in der Kombination von IVIG mit Rituximab bei einem Teil der Patienten signifikant positive Ergebnisse und konnten eine zuverlässige Therapiemöglichkeit bei CHR etablieren [50].

Bleibt der Einsatz der depletierenden Präparate dennoch erfolglos, zeigen neuere Pharmaka wie der humane C1-Esterase-Inhibitor aus menschlichem Blutplasma [51], welches aus der Therapie des hereditären Angioödems mit seinen regulatorischen Eingriffen in das Komplementsystem bekannt ist und der monoklonale Antikörper gegen den Interleukin-6 Rezeptor Tocilizumab [52], der in der Therapie der progressiven Rheumathoiden Arthritis zugelassen ist, positive Tendenzen in der Therapie der CHR. Außerdem propagieren die pharmakodynamischen Eigenschaften und in-vivo-Experimente an Mäusen die Wirksamkeit des humanen monoklonalen IgG λ -Antikörpers Belimumab in der Behandlung antikörpervermittelter Rejektionen. Das Medikament besitzt eine Spezifität für das *B-lymphocyte stimulator* (BLyS) Protein und wird in der Behandlung des therapierefraktären Systemischen Lupus erythematoses eingesetzt [53, 54].

4.8. Kaninchen Anti-Human-Thymozyten-Immunglobulin (rATG)

Seit Neuestem gewinnt das Kaninchen Anti-Human-Thymozyten-Immunglobulin (rATG) in der Behandlung der CHR solider Organtransplantationen zunehmende Aufmerksamkeit [45, 55]. In der Literatur finden sich neben der Bezeichnung rATG (Thymoglobuline[®], Sanofi Genzyme) weitere Termini, die teilweise aufgrund der Hersteller, aber ebenfalls in der Produktionsform variieren. Obwohl Unterschiede bezüglich der Spezifität angegeben werden und es sich *lege artis* um unterschiedliche Medikamente handelt, fasst diese Arbeit alle analog unter dem Begriff rATG zusammen, zumal da zum einen dieses Präparat Grundlage der vorliegenden Arbeit ist, zum anderen die Mehrzahl der Daten sich auf Untersuchungen mit rATG beziehen.

Das Medikament ist dem Transplantationsmediziner sowohl als Therapieoption akuter Abstoßungsreaktionen als auch aus Desensibilisierungsprotokollen bekannt [56]. Weitere Anwendungsgebiete sind die Behandlung von Graft-versus-Host Disease, Konditionierungstherapie bei allogener Stammzelltransplantation und die Behandlung aplastischer Anämien in der Hämatologie [56].

Bereits im Jahre 1899 beschrieb Metchnikoff in seinem Werk „*Études sur la résorption des cellules*“ die Fähigkeit des xenogen, sensibilisierten Serums, Lymphozyten der Spezies von der das Antigenmaterial stammte, zu beseitigen [57, 58]. Heute ist das Äquivalent dessen, rATG, als Arzneimittel vieler Pharmakonzerne, bevorzugt in der Darreichungsform als Pulver nach Lyphophilisierung, zur Herstellung einer Infusionslösung erhältlich [59].

Das Medikament gehört zu der Gruppe der selektiven Immunsuppressiva, dessen Hauptwirkung in der Depletion der T-Lymphozyten, einschließlich der CD4-positiven Helferlymphozyten, die für die Aktivierung der B-Zellantwort und daraus resultierenden Antikörperproduktion zuständig sind, besteht [59]. Die Immunsuppression durch das rATG wird über eine Vielzahl polyklonaler Antikörper, die gegen die Oberflächenantigene der jeweiligen Immunzellen gerichtet sind, erzielt [60].

Die Herstellung erfolgt über die Immunisierung von Kaninchen oder Pferden, denen humane Zellpopulationen injiziert werden. Als Immunisierungsmaterial werden beispielweise Thymozyten aus dem lymphatischen Gewebe thymektomierter Kinder verwendet oder Lymphozyten und Lymphoblasten aus der Kultur der Jurkat-Zelllinie entnommen. Anschließend werden die Sera fraktioniert und gereinigt [60].

Das fertige Präparat (hier: Thymoglobuline[®], Sanofi Genzyme) enthält T-zellspezifische Antikörper gegen die Oberflächenmoleküle CD2, CD3, CD4, CD8, CD11a, CD18, HLA-DR, HLA-A, HLA-B und HLA-C [59]. Bereits am Folgetag der rATG-Gabe ist im Blutbild der Patienten eine Lymphopenie zu erwarten [59, 60]. Zu den Mechanismen, die zu der Depletion der T-Lymphozyten führen, gehört die komplementvermittelte Zytolyse, die Induktion der Apoptose über die Fas (CD95-Rezeptor) / Fas Ligand Interaktion und Phagozytose der opsonierten Komponenten der Zellen durch Makrophagen [59, 60, 61]. Mittlerweile zeigen Studien den Einfluss des rATG auf weitere Zellpopulationen wie NK-Zellen [62, 63], CD27-positiv B-Gedächtniszellen [64, 65], Effektorzellen [65] und in gering dosierter Verabreichungsform des rATG die Reduktion der CD19-positiven B-Zellen [66].

Thematisch beschäftigt sich diese Dissertation mit der retrospektiven Datenerhebung 9 pädiatrischer Nierentransplantationspatienten, die nach Erschöpfung sämtlicher bekannter Therapieoptionen bei der frustranen Therapie einer chronisch-humoralen (antikörpervermittelten) Rejektion im Rahmen eines individuellen ärztlichen Heilversuches rATG erhielten. Erfahrungen

mit rATG in der Behandlung CHR scheinen faktisch unerfasst zu sein. Der Einsatz des rATG basiert ausschließlich auf indirekte Evidenz mit Hinweisen aus prophylaktischen Anwendungen aus denen bekannt ist, dass eine effektive Desensibilisierung vor Transplantationen bei Patienten mit präformierten DSA möglich ist [67] und sowohl die Produktion von de novo DSAs nach Transplantation signifikant reduziert wird als auch weniger antikörpervermittelte Rejektionen beobachtet werden [68].

5. Patienten und Methoden

5.1. Patienten

Aus der Patientendatenbank der pädiatrischen Nephrologie der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) wurden 9 pädiatrische Nierentransplantationspatienten mit der Diagnose einer chronisch-humoralen (antikörpervermittelten) Rejektion (CHR) retrospektiv identifiziert. Diese waren in den Jahren 2006 bis 2016 in regelmäßiger Nachbehandlung im KfH-Nierenzentrum für Kinder und Jugendliche an der MHH. Alle Patienten erhielten zur Behandlung der CHR nach erfolglosen Therapieversuchen mit Prednisolon, intravenösem Immunglobulin (IVIG) und Rituximab nach dem publizierten Schema von Billing et al. [50] sowie einer Intensivierung der Immunsuppression mit oder ohne Bortezomib und fakultativer Initiierung von Belatecept bei Non-Adhärenz, das Kaninchen Anti-Human-Thymozyten-Immunglobulin (rATG) als Rescue-Therapie.

Es wurden die Daten 9 Monate vor und nach rATG-Initiierung, in vierteljährlichen Abständen (-9, -6, -3, 3, 6, 9 Monaten), einmalig zum Zeitpunkt der CHR-Diagnose sowie einmalig zum Zeitpunkt der rATG-Gabe erfasst. Wurde die CHR-Diagnose in einer kürzeren Zeit als 9 Monate nach Transplantation gestellt, wurden die Parameter, die vor dem Zeitraum der Nierentransplantation lagen, nicht berücksichtigt.

Eine Verlängerung der Datenerhebung über 9 Monate nach Transplantation hinaus konnte, aufgrund der lückenhaften Datenlage (Transition, Zentrumwechsel) nicht durchgeführt werden. Neben den Basisdaten des Transplantatempfängers (Alter, Geschlecht, Body Maß Index (BMI), Körperoberfläche (KOF), Grunderkrankung der Eigennieren) und Spenderalter, welches dem Eurotransplant Donor Report entnommen wurde, Lebendspende versus postmortale Spende, Nierenersatzverfahren bis zum Zeitpunkt der Transplantation (präemptiv/ Hämodialyse/ Peritonealdialyse), Wartezeit mit Nierenersatzverfahren wurden folgende transplantationsrelevanten Daten dokumentiert:

5.2. Nierenfunktion

Die Abschätzung der eGFR erfolgte mit der Schwartz-Formel aus dem Jahre 2009 [69]. Die Urin-Albumin/Kreatinin Ratio wurde als Marker für Proteinurie verwendet.

5.3. Blutbild

Nach der Nierentransplantation erfolgte in der ersten Woche die tägliche Evaluation des großen Blutbildes, im Anschluss fanden 14-tägige Kontrollen statt. CD3-Zählungen wurden nicht durchgeführt.

5.4. Infektionen

In dreimonatigen Abständen wurden die Patienten mittels PCR (LightCycler[®], Roche Diagnostics, Basel, Schweiz) auf Epstein-Barr-Virus (EBV), Cytomegalievirus (CMV) und BK-Polyomavirusinfektion getestet.

5.5. Summe der HLA-Mismatches (MM) zur Gewebetypisierung

Zur Beurteilung der Histokompatibilität wurden die HLA-Loci-A, -B, -C, -DR und -DQ zum Zeitpunkt der Organzuteilung berücksichtigt. Die HLA-Typisierung erfolgte mittels hochauflösender, molekularbiologischer in-vitro-Diagnostik. Hierfür wurden CTS-Sequence[®] Kits (Heidelberg, Deutschland) und Olerup SSP[®] HLA-Typisierungskits (Saltsjöbaden, Schweden) verwendet.

Beide Verfahren basieren auf dem Prinzip der Polymerasekettenreaktion (PCR). Die CTS-Sequence[®] Kits bestimmen die HLA-Klassen I (HLA-A, -B und -C) und die HLA-Klassen II (HLA-DRB1, -DQB1 und -DPB1) stufenweise auf Grundlage der sequenzbasierten Typisierung. Im ersten Schritt findet die Vervielfältigung der DNA eines HLA-Genortes mittels PCR statt. Nachfolgend dient das Amplifikat als Vorlage für die Sequenzierungsreaktion für die spezielle Primer verwendet werden. Nachdem die Reinigung der Sequenzprodukte von den überschüssigen Reagenzien nach der Ethanol Präzipitationsmethode erfolgt ist, werden die Sequenzdaten von einer speziellen elektronischen Software interpretiert und anhand von Referenzdaten identifiziert [70, 71].

Bei den Olerup SSP[®] HLA-Typisierungskits binden ‚Sequenz Spezifische Primer‘ (SSP) exakt komplementäre HLA-Genorte der DNA des Patienten. Daraufhin erfolgt unter definierten Bedingungen in einer Polymerasekettenreaktion die Amplifikation. In einem weiteren Schritt wird das Reaktionsprodukt mittels Agarosegelelektrophorese nachgewiesen, indem die Färbung mit Ethidiumbromid der aufgetrennten, amplifizierten DNA-Fragmente im UV-Transilluminator

fotografisch dokumentiert wird [72, 73].

Als bestmögliche Matchgrad zwischen Spender und Empfänger gelten 0 Mismatches (MM), die sogenannte ‚*Full-House*‘ Niere, während bei 10 MM mit dem ungünstigsten langfristigen Transplantationserfolg zu rechnen ist [74].

5.6. Quantität der Immunisierung des Empfängers mit präformierten Antikörpern

Die Bestimmung des *Panel reactive antibody* Wertes (PRA in %) erfolgte mit dem Lymphozytotoxizitätstest (LCT) zum Zeitpunkt der Organallokation [75]. Dabei wird die Reagibilität des Empfängerserums mit 56 verschiedenen, bekannten HLA-typisierten Spenderlymphozyten auf einer Panelplatte untersucht. Der prozentuale Anteil, bei dem eine positive Reaktion vorliegt, dient als Maß für die Alloimmunisierung des Patienten, die beispielweise durch frühere Bluttransfusionen, Schwangerschaften und Transplantationen stattgefunden haben könnte [75,76].

5.7. Monitoring Donor-spezifischer Antikörper

Die Untersuchung auf Alloantikörper erfolgte vor der Transplantation und in jährlichen Abständen post transplantationem sowie bei Abfall der GFR um mehr als 20% des Ausgangswertes. Für die Bestimmung wurde das festphasenbasierte Verfahren mit LABScreen[®]-Single-Antigen-Beads Luminex[®]-Kit (One Lambda, Canoga Park, CA, USA) verwendet, welches spezifische IgG-Alloantikörpern gegen HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1/2/3/4/5, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1 und HLA-DPB1-Antigene identifiziert. Dies wird ermöglicht, indem den Beads jeweils nur ein HLA-Antigenmerkmal zugeordnet wird, sodass die hochauflösende Erkennung der Antikörperspezifitäten hochimmunisierter Patientenserum erfolgen kann. Durch einen fluoreszierenden anti-IgG Konjugatantikörper werden die gebundenen Antikörper mit entsprechenden Detektoren sichtbar. Je nach Intensität der Lichtemission der angeregten Sekundärantikörper wird durch den Vergleich mit entsprechenden Kontrollreihen die mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) berechnet, die mit der Konzentration, der in den Beads gebundenen HLA-Antikörper des Patientenserums korreliert. Das Luminex[®]-Verfahren ist als ein primär qualitatives Verfahren zugelassen, sodass durch den Hersteller kein klinisch validierter Cut-off Wert angegeben wird [77]. Aufgrund dessen wurde hier eine MFI >1000 als positiver Antikörpernachweis definiert, da bei höheren Werten häufiger antikörpervermittelte Rejektionen beobachtet wurden [78-80].

5.8. Nierenbiopsie

Eine Nierenbiopsie wurde durchgeführt, sobald das Patientenserum nach der oben genannten Definition positiv für Donor-spezifische Antikörper war und die eGFR um >20% des Ausgangswertes abgefallen war. Da zum Zeitpunkt einiger Biopsien das veraltete Banff-Klassifikationssystem von 2009 gültig war, wurden die histopathologischen Begutachtungen aus der Datenbank des Instituts für Pathologie der Medizinischen Hochschule Hannover anhand eines modifizierten Scoringsystems adaptiert an das revidierte Banff-Klassifikationssystem von 2013 erneut evaluiert, um somit eine Vergleichbarkeit der Biopsiebefunde zu erreichen [33].

Analog zu den revidierten Banff-Kriterien (2013) [33] wurden die Befunde auf das Vorhandensein der obligaten histomorphologischen Veränderungen überprüft und deren Kriterien je nach Ausprägung in einer Ordinalskala mit den Abstufungen nicht vorhanden=0, mild=1, mäßig=2 und schwer=3 dargestellt (Table 3: *Pathological evidence for chronic active antibody-mediated rejection according to the Banff 2013 criteria* der Publikation).

Die Kriterien nach der Banff-Klassifikation zur Diagnose der chronisch-humoralen (antikörpervermittelten) Rejektion setzen sich aus den folgenden drei Merkmalen zusammen, als deren Nachweis das Vorhandensein der Unterpunkte bzw. mindestens eines gewertet wurde (Tabelle 1) [33]:

I. Morphologischer Nachweis chronischer Gewebsläsion
a. Transplantatglomerulopathie
b. peritubuläre Mehrschichtenbildung in der kapillären Basalmembran
b. arterielle Intimafibrose
II. Nachweis kürzlich stattgefundener Antikörperinteraktion mit dem Gefäßendothel
a. lineare C4d Färbung in den peritubulären Kapillaren
b. mikrovaskuläre Entzündung
c. Expression von Gentranskripten mit Hinweis auf Endothelläsion (ENDAT) ¹
III. Nachweis von DSA

¹ entfällt, da keine Bestimmung erfolgte.

Tabelle 1: Kriterien zur Diagnose der chronisch-humoralen (antikörpervermittelten) Rejektion nach der Banff-Klassifikation (2013) [33]

Jede einzelne Behandlung wurde gesondert als Einzelfall nach dem deutschen Gesetz als ärztlicher-individueller Heilversuch betrachtet und es erfolgte vor der Therapie des 1. Patienten eine Meldung bei der Ethikkommission.

Die klinisch begründete Therapieoption wurde nach Abwägung des positiven Nutzens für den Patienten basierend auf der Annahme der pharmakodynamisch plausiblen Effektivität mit Zustimmung des Patienten bzw. in den vorliegenden Fällen der Erziehungsberechtigten unter Berücksichtigung des Patientenschutzes ausschließlich in kurativer Intention eingeleitet.

Die Arbeit thematisiert als Grundlage retrospektiv im Rahmen des individuellen Heilversuches erhobenen Daten. Zur Verwaltung der Daten und Erstellung von Diagrammen wurde das Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft[®] Excel (2017, Microsoft Office) verwendet. Da die Daten nicht normalverteilt waren, wurden die Ergebnisse primär als Medianwerte und Ranges festgehalten. Mittelwerte und Standardvarianten wurden ebenfalls ermittelt. Die statistische Analyse wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt und $p < 0,05$ wurde als signifikant definiert.

6. Ergebnisse

6.1. Patienten

Das mittlere Lebensalter der 6 männlichen und 3 weiblichen Patienten betrug zum Zeitpunkt der Nierentransplantation $11,3 \pm 6,1$ Jahre, wobei das Alter des jüngsten Patienten bei 0,3 und ältesten bei 15 Jahren lag. Sowohl die Anzahl der Patienten, die vor Transplantation hämodialysiert wurden, als auch die der Patienten, die eine Peritonealdialyse erhielten, lag bei 4 (44,4%).

Durchschnittlich verbrachten die Patienten $13,6 \pm 9,6$ Monate dialysepflichtig. Die Dialyse-dauer von $18 \pm 13,4$ Monaten bei Peritonealdialyse lag über der Zeit bei der Hämodialyse mit $9,25 \pm 5$ Monaten. Die mediane Hämodialysedauer erreichte 9 Monate bei einem Minimum von 2 Monaten bis maximal 13 Monaten. Die Peritonealdialyse musste im Median 19,5 Monate fortgesetzt werden. Die kürzeste Peritonealdialyse wurde ebenfalls 2 Monate durchgeführt, während ein Patient 31 Monate lang Peritonealdialyse erhielt.

Es wurde bei 2 Patienten eine Lebendspende (22,2%) durchgeführt von denen einer noch vor dem Eintritt der Dialysepflicht transplantiert werden konnte (Patient #2 und Patient #6 präemptiv). 6 Patienten erhielten eine postmortale Nierenspende (77,8%).

Die Altersverteilung der Spender reichte von 2 bis 52 Jahren bei einem medianen Spenderalter von 17,2 Jahren. Der Mittelwert betrug $21,3 \pm 19,8$ Jahre.

Bei allen Patienten handelte es sich um die Ersttransplantation.

An den Loci von HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR und HLA-DQ betrug der Median der Mismatches 5. Die bestmögliche Übereinstimmung lag bei 2 MM (Patient #3) und das ungünstigste bei 8 MM (Patient #8). Der Mittelwert war bei $4,9 \pm 1,9$ MM.

Es handelte sich größtenteils um angeborene, genetisch bedingte Grunderkrankungen, die bei den pädiatrischen Patienten zu terminalem Nierenversagen geführt hatten (für die detaillierten Krankheitsbilder und eine Übersicht über die wichtigsten Patientenmerkmale: Table 1: *Patient characteristics, treatment and donor-specific antibodies (DSAs) status*, der Publikation).

6.2. Immunsuppressive Therapie

Alle Patienten der vorliegenden Studie erhielten eine Induktionstherapie mit dem monoklonalen Interleukin-2-Rezeptor-Antikörper Basiliximab (Simulect[®], Novartis Pharma) (an Tag 0 und Tag 4 bei einem Gewicht von <35 kg 10 mg und bei einem Gewicht von >35kg 20 mg). Die initiale Immunsuppression erfolgte mit dem Calcineurininhibitor Cyclosporin A (Sandimmun[®] Optoral, Novartis Pharma) oder Tacrolimus (Prograf[®], Astellas Pharma) in Kombination mit Glucokortikoiden. In zwei Fällen wurde die initiale immunsuppressive Therapie mit dem Inosinmonophosphatdehydrogenaseinhibitor Mycophenolatmofetil (CellCept[®], Roche) ergänzt. (Patient #7 und #8) Ab der 4. Woche nach der Transplantation wurde nach Pape et al. die CsA Dosierung stufenweise auf die niedrigste Erhaltungsdosis reduziert und zeitgleich die Immunsuppression mit dem mTOR-Inhibitor Everolimus oder Sirolimus eingeleitet. Die Glucokortikoide wurden nach einem halben Jahr post transplantationem bei unauffälliger Kontrollbiopsie ausgeschlichen, beziehungsweise auf eine Erhaltungsdosis von 5mg reduziert. Bei Patient #3 wurde aufgrund einer akut zellulären Abstoßungsreaktion (Banff-Klassifikation Kategorie 4, Typ IIA) das CsA auf Tacrolimus umgestellt [81, 82] (Table 2: *Maintenance immunosuppression* der Publikation).

6.3 Diagnose der chronisch-humoralen (antikörpervermittelte) Rejektion und Therapie

Die mediane Zeitdauer zwischen Transplantation und Diagnose der CHR betrug 179 Tage. Der früheste Zeitpunkt der Diagnose lag bei 25 Tagen, der späteste bei 4469 Tagen (12,6 Jahren) nach Transplantation. Das Alter der Patienten bei CHR Diagnose lag im Median bei 14,7 Jahren.

Die Diagnose wurde anhand der histologischen Kriterien und dem Nachweis von DSA nach den revidierten Banff-Kriterien (2013) gestellt, eine Wiederholung der Biopsie war in keinem der Fälle notwendig [33] (Table 1 *Patient characteristic, treatment and donor-specific antibodies (DSAs) status* und Table 3 *Pathological evidence for chronic active antibody-mediated rejection according to the Banff 2013 criteria* der Publikation).

Da zum Zeitpunkt der CHR-Diagnose eines Patienten die DSA Bestimmung mit Luminex[®] noch nicht etabliert war, erfüllt dieser die revidierten Banff-Kriterien (2013) nur eingeschränkt (Patient #8).

Zusätzlich lag bei 4 Patienten neben der CHR-Diagnose eine zelluläre Abstoßung vor (Patient #4, #6 und #8 Banff-Klassifikation Kategorie 4, Ia und bei Patient #9 Banff-Klassifikation IB).

Bei der CHR-Diagnose wurde die Initialbehandlung nach Billing et al [50] mit sechsmaliger Steroidpulstherapie (6 x je 300 mg/m² Körperoberfläche [KOF]), wöchentlichen IVIG Zyklen (1g/kg × 4 Zyklen) und monatlichen Rituximab Infusionen (375 mg/m² BSA) eingeleitet. Bei Persistenz des Serumkreatininanstiegs erhielten zwei Patienten (#1 und #8) sechs Sitzungen Immunadsorption. Mit Ausnahme eines Patienten (#8) wurde 8 Patienten Bortezomib wie beschrieben im Walsh et al. [83] verabreicht, da die Transplantatfunktion nach wie vor eine fortschreitende Verschlechterung aufzeigte und die MFI-Werte als Konsequenz der Interventionen nicht abnahmen.

Des Weiteren wurde eine individuelle Anpassung des immunsuppressiven Regimes durchgeführt. Bei niedrigem Everolimus (<4 µg/l) oder CsA (<60 mg/l) Talspiegel wurde eine Dosiserhöhung vorgenommen und bei steroidfreien Patienten Prednisolon mit einer Dosis von 3 mg/m² KOF initiiert. Lagen die Talspiegel von mTOR (*engl. mechanistic Target of Rapamycin*) Inhibitoren wie Everolimus und von CsA im oberen Referenzbereich, wurde CsA durch Tacrolimus (Ziel 8-10 mg/l) ersetzt (Patient #1 und #8). In zwei Fällen wurde Mycophenolatmofetil (MMF) eingeleitet (Patient #1 und #5).

Bei Nichtansprechen der CNI-Substitution in Kombination mit Everolimus bei drei Patienten wurde die Behandlung mit deren Einverständnis zu einer kontinuierlichen intravenösen Therapie, anstatt mit CNI mit Belatacept (Patient #2, #4 und #5) fortgesetzt [84]. Dieselbigen Patienten wurden im Rahmen der vierteljährlichen Screeninguntersuchung auf Infektionen für EBV positiv getestet. Zusätzlich galten diese Patienten (#2, #4 und #5) durch Eigenbeurteilung und den behandelnden Arzt als non-adhären. Die übrigen 6 Patienten konnten als zuverlässig in der Umsetzung des immunsuppressiven Regimes eingestuft werden (#1, #3, #6, #7, #8, #9).

Unter der oben genannten Therapie wurde bei 3 Patienten (#4, #5, #9) nur ein moderater Anstieg der eGFR beobachtet, während bei den restlichen 6 Patienten ein progredienter Abfall der eGFR verzeichnet wurde.

Aufgrund der anzunehmenden fortschreitenden, irreversiblen Verschlechterung der Transplantatfunktion wurde in allen Fällen die Indikation zur Einleitung eines ‚individuellen Heilversuches‘ mit rATG gestellt.

Die zeitliche Verzögerung von der CHR Diagnose bis zur rATG-Gabe lag im Mittel bei $181,4 \pm 235,7$ Tagen. Die schnellste rATG-Gabe fand nach 5 Tagen statt (Patient #9), die längste Zeitspanne betrug 741 Tage (Patient #8)

Alle Patienten erhielten während eines stationären Aufenthaltes von 5 Tagen über einen peripheren Zugang in einer Dosis von 1,5 mg/kg über 4h die kumulative Gesamtdosis von 7,5 mg/kg rATG (Thymoglobuline[®], Sanofi Genzyme).

6.4. Donor-spezifische Antikörper

Zum Zeitpunkt der Transplantation besaß keiner der Patienten präformierte DSAs gegen HLA. Nachdem die Diagnose der CHR gestellt wurde, konnten bei 6 Patienten de novo DSAs gegen HLA-DQ (#1, #2, #3, #4, #7 und #9), bei einem in Kombination mit DSAs gegen HLA-A (#2) und bei jeweils einem gegen HLA-A (#5) und HLA-B (#6) gemessen werden. (Der als Cut-off definierte Wert von >1000 MFI wurde überschritten.) Nachdem die rATG-Therapie erfolgt war, konnten bei 4 Patienten in den letzten Nachuntersuchungen keine DSAs mehr nachgewiesen werden (#2, #5, #6 und #9). Bei einem Patienten kam es zu einem relevanten Abfall des MFI-Wertes (#4: DQ5 von MFI 20020 auf MFI 1561) [85], während bei drei Patienten sich die mittlere Fluoreszenzintensität weitestgehend konstant verhielt (#1 und #7 Tendenz fallend, #3: Tendenz steigend) (Abbildung 2 und Table 1 *Patient characteristic, treatment and donor-specific antibodies (DSAs) status der Publikation*).

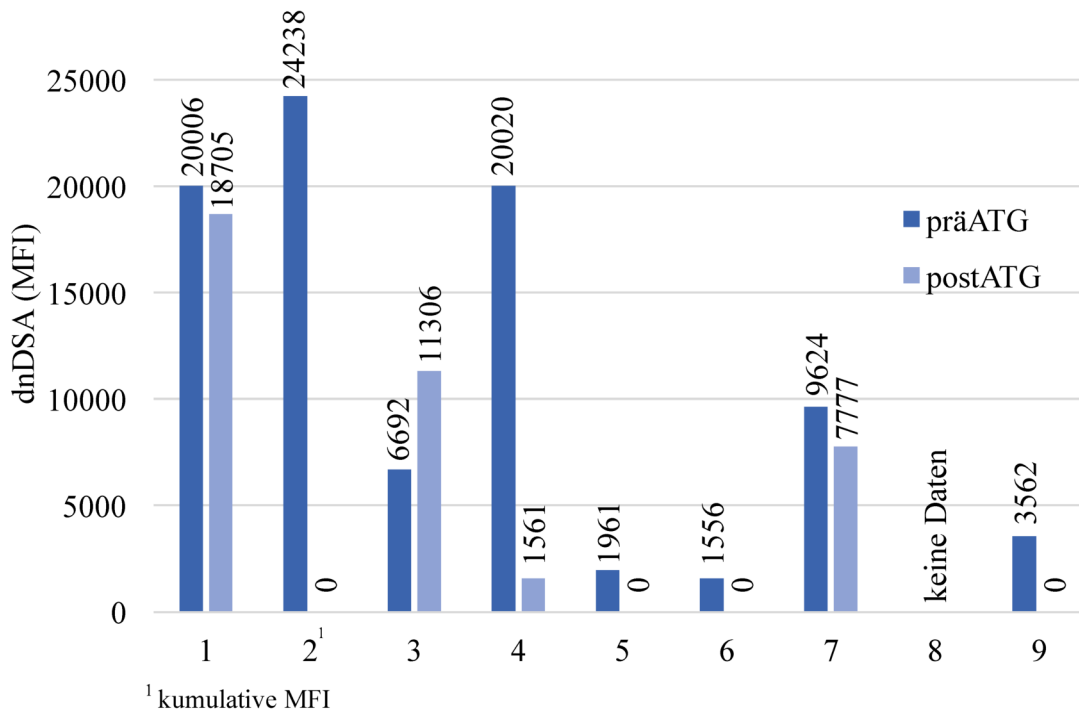


Abbildung 2: MFI-Werte zum Zeitpunkt der CHR-Diagnose (präATG) und nach rATG-Gabe (postATG)

6.5. Transplantatfunktion

Die mediane eGFR betrug 9 Monate vor der CHR Diagnose 100 (Range 57-126) mL/min/1,73 m², sank während der Diagnose der CHR auf 48 mL/min/1,73 m² und fiel bis zur rATG-Initiierung auf 40 (Range 17-57) mL/min/1,73 m². Nach der rATG-Gabe erholte sich innerhalb von 9 Monaten die eGFR allmählich auf 62 (Range 13-87) mL/min/1,73 m² (p=0,039 versus Zeitpunkt der rATG-Initiierung).

Bei 4 Patienten (#4, #5, #8 und #9) zeigte sich ein deutlicher Anstieg der eGFR (um 28 bis 41 mL/min/1,73 m²), während bei 2 Patienten sich die eGFR mäßig verbesserte (#3: 10 mL/min/1,73 m², #6: 7 mL/min/1,73 m²). Bei 3 Patienten kam es nach der rATG-Initiierung (#1: von 36 auf 30 mL/min/1,73 m², #2: von 48 auf 21 mL/min/1,73 m², #7: von 27 auf 13 mL/min/1,73 m²) zu einer Verschlechterung der Nierenfunktion. Die eGFR Werte dieser Patienten waren zum Zeitpunkt der CHR Diagnose nicht niedriger als die der anderen (Fig.1, Fig.2 und Table 1 der Publikation).

Die Urinalbumin/Kreatinin Ratios zeigten nach rATG-Initiierung kein einheitliches Verlaufsmuster. Bei CHR Diagnose variierten die Werte von <5mg/mmol (Patienten #1, #4, #5 und #6)

bis <900mg/mmol (Patienten #2 und #3). Nach rATG-Initiierung blieb das Verhältnis bei 3 Patienten (#1, #6 und #7) stabil, sank bei 3 Patienten (#3, #5 und #8) und stieg bei 3 Patienten (#2, #4 und #9, Abb.3). Die mediane Urin-Albumin/Kreatinin Ratio betrug 22,9 mg/mmol bei rATG-Initiierung und 9 Monate danach 13,5 mg/mmol ($p=0,29$) (Fig.3 *Urinary albumin/creatinin ratio* [...] der Publikation).

Während des 9-monatigen Follow-Up trat kein Transplantatverlust auf und keiner der Patienten wurde dialysepflichtig.

6.6. Verträglichkeit des rATG

Während des Beobachtungszeitraumes konnte bei keinem Patienten eine mit rATG-Gabe assoziierte unerwünschte Reaktion beobachtet werden, einschließlich allergischer Reaktionen, Leukozytopenien oder Hospitalisierungen, aufgrund schwerer Infektionen (oder Krankenhausaufenthalte aus anderen Gründen). Es kam zu keiner neu diagnostizierten Epstein Barr Virus, Cytomegalievirus oder BK-Polyomavirus Infektion.

7. Diskussion

Die hier vorgestellte Arbeit berichtet über die ersten Beobachtungen, die in der Anwendung des Kaninchen Anti-Human-Thymozyten-Immunglobulin in der Behandlung der chronisch-humoralen (antikörpervermittelten) Rejektion bei pädiatrischen Nierentransplantationspatienten gemacht wurden. Die Dokumentation der Erfahrungen ist insoweit von Relevanz, da das Ansprechen der Patienten auf das derzeit angewandte übliche Therapieregime nicht zufriedenstellend ist und es keine zugelassenen Medikamente für diesen Behandlungsanlass gibt.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen positive Tendenzen und plädieren für die Berücksichtigung des rATG als möglicher Bestandteil der Therapie der CHR. Insgesamt wurden 9 Patientenfälle beobachtet, bei denen eine unaufhaltsame Progredienz der Verschlechterung der Nierenfunktion bei Diagnose einer CHR vorlag. Nachdem alternative Therapieoptionen erfolglos blieben, wurde bei allen Patienten eine fünftägige rATG Rescue-Therapie durchgeführt. In 4 Fällen zeigte sich eine deutliche und in 2 Fällen leichte Erholung der Nierenfunktion. Bei den übrigen 3 Patienten war der negative Progress fortlaufend.

Bemerkenswert erscheint der Aspekt, dass die Diagnose der CHR bei den 4 Patienten, die gut auf die rATG Therapie angesprochen hatten, bereits innerhalb der ersten 4 Monate nach Transplantation gestellt worden war. Demnach scheint die in einem kürzeren Zeitraum nach Transplantation festgestellte CHR der rATG-Therapie besser zugänglich zu sein, während die lange Zeit post transplantationem diagnostizierten Abstoßungen unbeeinflusst bleiben.

Bei 4 der 8 Patienten von denen die Luminex[®] Daten vorlagen, konnten die zum Zeitpunkt der CHR-Diagnose vorhandenen dnDSA zu einem späteren Zeitpunkt nach rATG-Gabe nicht mehr nachgewiesen werden. Bei einem Patienten kam es zu einem relevanten Abfall des MFI-Wertes, der sich in den restlichen Fällen nur marginal veränderte. Bei 3 Patienten persistierten die dnDSA, die gegen HLA-DQ gerichtet waren, welches als häufig dominierende Form in der antikörpervermittelten Abstoßung gilt und schwierig zu eliminieren ist [86]. Infolgedessen könnte ein dnDSA eliminierender Einfluss des rATG vermutet werden.

Das derzeitige Therapieregime der CHR nutzt Medikamente, die in erfolgreichen Desensibilisierungsprotokollen hochsensibilisierter Patienten etabliert sind, beispielweise wie der Einsatz

der gängigen Kombination aus IVIG und Rituximab [87]. In einer 2015 publizierten Fall-Kontroll Studie wurde der additive Effekt von Rituximab in Desensibilisierungsprotokollen, die aus Plasmapherese und IVIG bestanden, auf DSA untersucht [88]. Die Ergebnisse zeigten, dass eine Induktion mit Rituximab den erneuten Anstieg von DSAs im Vergleich zur Kontrollgruppe verringert, jedoch keinen Einfluss auf die Eliminierung der DSAs besitzt [88].

Des Weiteren wird der Einfluss des Proteasominhibitors Bortezomib auf DSA, welches in der Therapie des progredienten Multiplen Myeloms zugelassen ist und über Induktion der Plasmazellapoptose wirkt, kontrovers diskutiert [89, 90, 91]. Während in einer retrospektiven Studie aus 33 pädiatrischen Nierentransplantationspatienten im Jahre 2017 eine Stabilisierung der eGFR um 3-6 Monate und Reduktion des DSA-Titers bei CHR beobachtet wurde [89], sprechen insbesondere Daten aus der Erwachsenentransplantationsmedizin gegen die Fähigkeit Bortezomibs DSA zu supprimieren [90, 91]. Eskandary et al. veröffentlichten die Ergebnisse der randomisiert placebokontrollierten Studie BORTEJECT, die 44 DSA-positive Nierentransplantatempfänger mit CHR umfasst und keine signifikanten Unterschiede zwischen einer mit Bortezomib behandelten Gruppe und Placebo Gruppe in der Verbesserung der eGFR ($p=0,86$) und DSA-Titer zeigt [91].

Darüber hinaus stellen neuere Pharmaka wie der humanisierte monoklonale IL-6 Rezeptor Antikörper Tocilizumab [92] und der C1-Esterase Inhibitor [92] mögliche Therapieoptionen dar. Aktuell werden Studien zu der Wirksamkeit in der antikörpervermittelten Rejektion des Komplementinhibitors Eculizumab [93], welcher über die Blockierung von C5 wirkt, durchgeführt. Erste Ergebnisse zeigen, dass durch Beeinflussung der Komplementkaskade die Nierenfunktion der Patienten mit diagnostizierter CHR stabilisiert werden kann [94].

Es existiert nur eine limitierte Anzahl an Publikationen zu der Anwendung des rATG in der Behandlung antikörpervermittelter Rejektionen. Zusätzlich beziehen sich diese Daten größtenteils auf akute antikörpervermittelten Rejektionen, nicht chronische.

Eine Studie aus dem Jahre 2004 thematisiert 27 Patienten mit einer akuten antikörpervermittelten Rejektion, von denen 22 Patienten neben Steroiden, Rituximab und Plasmapherese zusätzlich rATG zur Behandlung erhielten. Das Transplantatüberleben lag nach der 2-jährigen Nachbeobachtungszeit bei 85 % [95].

Zheng et al. behandelten 4 Patienten, bei denen 2 Wochen nach Nierentransplantation eine akute antikörpervermittelte Rejektion diagnostiziert wurde, mit rATG in der Monotherapie [96]. Insbesondere bei den Patienten, bei denen die Nierenbiopsie geringe Gewebeschäden zeigte, konnte durch den Einsatz von rATG eine Reduktion des DSA-Titers erreicht werden. Bei einem Patienten war in der letzten Nachuntersuchung der DSA-Wert nicht mehr nachweisbar. Dennoch konnte durch rATG in der Monotherapie keine optimale Verbesserung der Nierentransplantatfunktion erreicht werden [96].

In einem Fallbericht aus dem Jahre 2015 wird ein hochsensibilisierter, pädiatrischer Nierentransplantationspatient, der zur Behandlung einer schweren akuten antikörpervermittelten Rejektion Eculizumab nach IVIG und Plasmapherese in Kombination mit einer 4-tägigen rATG-Gabe erhielt, vorgestellt. Die Transplantatfunktion besserte sich rasch und 9 Monate post transplantationem konnten keine DSA nachgewiesen werden [97].

Ein weiterer Fall aus dem Jahr 2015 demonstriert die erfolgreiche Antirejektionstherapie mit hochdosierten Steroiden, IVIG und Plasmapherese sowie rATG bei einer kombinierten akut zellulären und antikörpervermittelten Abstoßung, während der Schwangerschaft einer Patientin, sodass das Kind ohne Transplantatverlust der Mutter ausgetragen wurde. Interessant wäre der Verlauf der MFIs gewesen, der in dieser Publikation nicht dokumentiert wurde [98].

Eines der wesentlichen Bedenken in der Anwendung des rATG stellt das Nebenwirkungsprofil des Präparates dar. Zu den unerwünschten Risiken zählen neben Infektionen, Reaktivierungen inbegriffen, die Entstehung von Malignitäten, wovon insbesondere lymphoproliferative Erkrankungen gefürchtet werden [59]. Im Rahmen neuer, moderner Dosierungsschemata, in denen die Gesamtdosis von 14 mg/kg auf bis zu 6 mg/kg reduziert wurde und der prophylaktischen Anwendung antiviraler Wirkstoffe, konnte die Wahrscheinlichkeit des Eintretens unerwünschter Ereignisse erheblich reduziert werden [90-101].

Ebenso wurde von den hier vorgestellten Patienten das rATG gut vertragen und konnte komplikationslos über 5 Tage mit einer Gesamtdosis von 7,5 mg/kg verabreicht werden. Bei keinem der Fälle kam es zu Hospitalisierungen, aufgrund von Infektionen oder Blutbildveränderungen. Nichtsdestotrotz ist insbesondere in Anbetracht des jungen Alters der nierentransplantierten Kinder und Jugendlichen die Evaluation der Therapierisiken, auch im Hinblick auf maligne Erkrankungen, in einem langfristigen Setting in zukünftigen Studien unverzichtbar.

Jeder einzelne Krankheitsverlauf wurde hier als individuelle Einzelfallanalyse bewertet. Retrospektiv betrachtet, verbanden dennoch wichtige Aspekte die Patienten. Dazu zählt, dass die kleine Kohorte relativ klassische Probleme der pädiatrischen Nierentransplantatempfänger bezüglich der Non-Adhärenz präsentierte, welches einen führenden Risikofaktor für die dnDSA-Entwicklung darstellt [102, 103]. Alle Patienten erhielten zunächst einheitlich Therapieversuche mit Steroidpulsen, Rituximab und IVIG. Die Nierenfunktion verschlechterte sich dennoch progredient, sodass bei jedem Patienten eine zeitnahe Dialysepflicht drohte. Die rATG-Gabe wurde erst initiiert, nachdem sämtliche alternative Therapieoptionen erschöpft worden waren. Demnach sind die Ergebnisse, in der 4 von 9 Patienten 9 Monate nach rATG eine deutliche und 2 von 9 Patienten eine leichte Verbesserung der Nierenfunktion zeigten, obwohl die Anzahl der Patienten sehr klein ist, durchaus ermutigend. Zukünftige Studien könnten den Nutzen der frühzeitigen Einleitung von rATG in der Behandlung des CHR versuchsweise in Kombination mit einer oder mehrerer Pharmaka thematisieren.

Interessant ist, dass sich die 3 Patienten, bei denen sich die Nierenfunktion trotz identischem Therapieregime mit rATG verschlechterte, in keinem charakteristischen Merkmal von den Respondern unterschieden. Einzige Ausnahme war, dass bei den Non-Respondern die CHR-Diagnose zeitlich später nach der Transplantation erfolgt war. Demnach wäre es aufschlussreich zu analysieren, unter welchen Bedingungen Patienten mit einer CHR auf die rATG-Therapie ansprechen.

Das rATG selbst wirkt sowohl über immunmodulatorische als auch zelldepletierende Mechanismen durch Antikörper, die gegen Zellmembranantigene der T-Zell und Nicht T-Zellreihen, einschließlich B-Lymphozyten, Plasmazellen und NK-Zellen gerichtet sind [104, 105].

Zand et al. beobachteten in vitro die komplementunabhängige Induktion der Apoptose der naiven, aktivierten und Plasma-B-Lymphozyten über den Caspase und Cathepsin-vermittelten Signalweg durch rATG [106]. In vivo werden die zirkulierenden T-Lymphozyten und NK-Zellen supprimiert [62-64]. Tierexperimente konnten zeigen, dass insbesondere die Depletion der NK-Zellen, welche die inflammatorischen Prozesse im Transplantat führend fördern, mit einem längeren Transplantatüberleben einhergeht [107]. Ebenso scheint eine selektive depletierende Wirksamkeit des rATG gegen CD19⁺ sowie CD27⁺ Gedächtnis- und switch Gedächtnis-B-Lymphozyten, welches in Studien zu Desensibilisierungen und in Induktionstherapien vor Transplantationen beobachtet wurde, vorzuliegen [62-66]. Während für die Suppression der

Gedächtnis-B-Lymphozyten durch das rATG, die fehlende Verfügbarkeit der supprimierten antigenspezifischen T-Lymphozyten verantwortlich sein könnte, bleiben reife B-Lymphozyten und Plasmazellen in vivo unbeeinflusst von rATG [62-64].

Im Hinblick auf die pharmakologischen Eigenschaften ist in diesem Punkt die Kombination des rATG mit Rituximab sinnvoll. Rituximab ist ein chimärer, monoklonaler Antikörper, der B-Zell-Subpopulationen mit dem Oberflächenmarker CD20 erkennt und insbesondere reife B-Lymphozyten depletiert [64, 108]. Genauer wird CD20 auf den B-Lymphozyten in den meisten Stadien der Zellentwicklung mit Ausnahme der sehr frühen Stadien und der Gedächtnis B-Lymphozyten exprimiert [64, 88, 109]. Daraus folgt, dass sich diese zwei Präparate in ihrer immunologischen Wirksamkeit in Behandlung der CHR komplementär ergänzen. Dem gegenüber steht jedoch vor allem das erhöhte Risiko für die infektiösen Komplikationen, die mit der Anwendung des Rituximabs assoziiert sind [108]. In einer Studie aus dem Jahre 2009 beobachteten Kamar et al. eine erhöhte Inzidenz von infektassoziiertem Tod bei organtransplantierten Patienten, die Rituximab in der Kombination mit rATG erhielten [110].

Insgesamt ist es dennoch schwierig, aus der Gesamtheit des sehr kleinen Patientenkollektives eine allgemeine Aussage zu treffen. Zusätzlich unterschieden sich die Patienten in vielerlei Hinsicht, sodass ein Vergleich nur mit Einschränkungen möglich ist. Zum einen variierte die Zeitdauer zwischen der CHR-Diagnose und rATG-Initiierung bei jedem einzelnen Patienten. Zum anderen erhielten einige Patienten im Rahmen des individualisierten Therapieregimes neben den einheitlich verabreichten Medikamenten zusätzlich Belatecept oder Bortezomib. So wurde beobachtet, dass der Einsatz von Bortezomib in der Antirejektionstherapie der CHR bei pädiatrischen Nierentransplantationspatienten zu einer passageren Abnahme des DSA-Wertes führt [89, 111]. Dieses limitiert die Aussagekraft der Ergebnisse und die rATG deduzierte Effektivität als einzelnes Therapeutikum.

Zusätzlich gelten die grundsätzlichen Schwächen der retrospektiven Datenerhebung. Die Durchführung von ergänzenden Probenbiopsien, DSA Bestimmungen unmittelbar vor und nach rATG-Gabe und ein Monitoring der B- und T-Zell-Subtypreihen hätten zur Erkenntnisgewinnung sinnvoll beitragen können, waren jedoch insbesondere aufgrund der Durchführung der Therapie im Rahmen des individuellen Heilversuches nicht möglich.

8. Schlussfolgerung

Zusammenfassend handelt es sich um die Vorstellung des ersten und größten Datensatzes pädiatrischer Nierentransplantationspatienten, die rATG zur Behandlung einer CHR erhielten. Trotz der Einschränkung durch ein heterogenes Therapieregime der betrachteten Patienten und die geringe Patientenzahl verbesserte der Einsatz von rATG bei einigen Patienten die Transplantatfunktion. Infolgedessen können diese Beobachtungen in ähnlichen, schwierigen Situationen dazu ermutigen rATG als Rescue-Therapie einzusetzen. Letztlich kann diese Arbeit als Anregung für weitere Studien zur Behandlung der CHR mit rATG dienen. Eine Analyse, welche patientenassoziierten Variablen mit einem günstigeren Therapieansprechen verbunden sind, wäre sinnvoll. Interessant wäre weiterhin zu erforschen, ob ein früherer Einsatz des Therapeutikums im Therapieregime oder die Kombination mit weiteren Präparaten zu einem besseren Behandlungserfolg führt, um somit den betroffenen Patienten in Zukunft die bestmögliche Therapie zu ermöglichen.

Zusammenfassung

Einleitung

In Anbetracht des zunehmenden Organmangels ist eines der größten Bestrebungen des Transplantationsmediziners, die Transplantatfunktion eines transplantierten Patienten solange wie möglich zu erhalten und Abstoßungsreaktionen zu verhindern. Die häufigste Ursache des Transplantatverlustes stellt die chronisch-humorale (antikörpervermittelte) Rejektion (CHR) dar. Die bis zum heutigen Zeitpunkt angewandten Therapieregime bei CHR bleiben oftmals erfolglos. Zu den Therapieansätzen gehören neben dem Versuch der Elimination der zirkulierenden Donor spezifischen Antikörper (DSA) mit intravenösem Immunglobulin (IVIG), die Plasmapherese oder die Immunadsorption. Viele der genannten Therapieoptionen berufen sich auf kleine Fallserien oder retrospektive Studien. Billing et al. beobachteten 2012 in einer prospektiven Studie bei nierentransplantierten Kindern und Jugendlichen bei dem Einsatz der Kombination von IVIG mit Rituximab bei einem Teil der Patienten signifikant positive Ergebnisse. In Bezug auf die pharmakodynamischen Eigenschaften scheint der Einsatz des Kaninchen Anti-Human-Thymozyten-Immunglobulin (rATG) in der Behandlung der CHR sinnvoll zu sein. Ziel der vorliegenden retrospektiven Datenerhebung aus der Patientendatenbank der pädiatrischen Nephrologie der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) ist die Evaluation der zusätzlichen Therapie mit rATG bei 9 pädiatrischen Nierentransplantationspatienten mit therapierefraktärer CHR, die bereits mit IVIG und Rituximab behandelt wurden.

Patienten und Methoden

Die 6 männlichen und 3 weiblichen Patienten im mittleren Lebensalter von $11,3 \pm 6,1$ Jahren zum Zeitpunkt der Transplantation waren in den Jahren 2006 bis 2016 in regelmäßiger Nachbehandlung im KfH-Nierenzentrum für Kinder und Jugendliche der MHH. Die mediane Zeitdauer zwischen Transplantation und Diagnose der CHR betrug 179 Tage bei einem medianen Alter von 14,7 Jahren. Die Daten wurden 9 Monate vor und nach rATG-Gabe jeweils in vierteljährlichen Abständen, einmalig zum Zeitpunkt der CHR-Diagnose sowie einmalig bei rATG-Initiierung erfasst. Neben den Basisdaten des Transplantatempfängers wurden die transplantationsrelevante Daten wie die geschätzte, glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) und die Urin-Albumin/Kreatinin Ratio zur Beurteilung der Nierenfunktion, die Summe der HLA-Mismatches, Panel-reactive-antibody Werte (PRA in %) und die mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) der

Donor-spezifischen Antikörper (DSA) dokumentiert. Des Weiteren erfolgte ein Monitoring auf Infektionen in dreimonatigen Zeitabständen und die Evaluation der histopathologischen Begutachtungen der Nierenbiopsien nach dem revidierten Banff-Klassifikationssystem (2013). Die Auswertung der nicht normalverteilten Daten wurde mit Microsoft®Excel (2017, Microsoft Office) anhand der Bestimmung der Medianwerte, Ranges, arithmetischer Mittel und Standardabweichungen durchgeführt. Die statistische Analyse erfolgte mit dem Mann-Whitney-U-Test und $p < 0,05$ wurde als signifikant definiert.

Ergebnisse

Die Ergebnisse 9 Monate nach der rATG-Initiierung zeigten bei 4 von 9 Patienten einen deutlichen und bei weiteren 2 Patienten einen milden Anstieg der eGFR. Die mediane eGFR verbesserte sich von 40 mL/min/1,73 m² in diesen 9 Monaten nach rATG-Gabe auf 62 mL/min/1,73 m² ($p=0,039$). Bei den restlichen 3 Patienten konnte der Progress der Nierenfunktionsverschlechterung durch rATG nicht aufgehalten werden. Zum Zeitpunkt der Transplantation besaß keiner der Patienten präformierte DSAs gegen HLA. Nachdem die Diagnose der CHR gestellt wurde, konnten bei 6 Patienten de novo DSAs nachgewiesen werden. In der letzten Nachuntersuchung nach der rATG-Therapie konnten bei 4 Patienten keine DSAs mehr bestimmt werden. Bei einem Patienten kam es zu einem relevanten Abfall der mittleren Fluoreszenzintensität (MFI), während sich bei drei Patienten die MFI weitestgehend konstant verhielt. Bei keinem der Patienten kam es während des Beobachtungszeitraumes zu einem Transplantatverlust. Es wurden keine unerwünschten Ereignisse, einschließlich allergischer Reaktionen, Leukozytopenien und Infektionen bei den Patienten beobachtet, als deren Ursache die rATG-Gabe angenommen werden konnte.

Schlussfolgerung

Bei Kindern und Jugendlichen mit CHR nach Nierentransplantation könnte rATG bei Therapieresistenz in Bezug auf die Standardtherapie eine zusätzliche therapeutische Option darstellen. Dieses muss noch in größeren prospektiven Studien belegt werden.

7. Literaturverzeichnis

1. Eurotransplant Statistics Report Library: Kidney transplants in 2017, by country, by donor type, by organ combination. 11.01.2018; Available at: <http://statistics.eurotransplant.org/reportloader.php?report=55923-6088-6146&format=pdf&download=1>. Accessed 16.01.2018.
2. Yearly Statistics Overview Eurotransplant, 2017. 11.01.2018; Available at: <http://statistics.eurotransplant.org/reportloader.php?report=268803-6088&format=pdf&download=1>. Accessed 16.01.2018.
3. Eurotransplant Statistics Report: Deceased donors used, per million population, by year, by donor country. 11.01.2018; Available at: http://statistics.eurotransplant.org/index.php?search_organ=all+organs&search_region=All+ET&search_period=by+year. Accessed 16.01.2018.
4. Balance de actividad de la Organizacion Nacional de Trasplantes en 2017. 04.01.2018; Available at: <http://www.ont.es/Documents/Datos20172018ENE11.pdf>. Accessed 19.01.2018.
5. McDonald SP, Craig JC. Long-Term Survival of Children with End-Stage Renal Disease. *N Engl J Med* 2004 06/24; 2018/01;350(26):2654-2662.
6. Saran R, Robinson B, Abbott KC, Agodoa LYC, Albertus P, Ayanian J, et al. US Renal Data System 2016 Annual Data Report: Epidemiology of Kidney Disease in the United States. *American Journal of Kidney Diseases* 2017 March 2017;69(3, Supplement 1): A7-A8.
7. Amaral S, Sayed BA, Kutner N, Patzer RE. Preemptive kidney transplantation is associated with survival benefits among pediatric patients with end-stage renal disease. *Kidney Int* 2016 Nov;90(5):1100-1108.
8. North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies (NAPRTCS), Annual Transplant Report 2014. Available at: <https://web.emmes.com/study/ped/annlrept/annualrept2014.pdf>. Accessed 20.01.2018.
9. Dharnidharka VR, Lamb KE, Zheng J, Schechtman KB, Meier-Kriesche HU. Lack of significant improvements in long-term allograft survival in pediatric solid organ transplantation: A US national registry analysis. *Pediatr Transplant* 2015 Aug;19(5):477-483.

10. Meier-Kriesche HU, Schold JD, Srinivas TR, Kaplan B. Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era. *Am J Transplant* 2004 Mar;4(3):378-383.
11. Djamali A, Premasathian N, Pirsch JD. Outcomes in kidney transplantation. *Semin Nephrol* 2003 May;23(3):306-316.
12. Einecke G, Sis B, Reeve J, Mengel M, Campbell PM, Hidalgo LG, et al. Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. *Am J Transplant* 2009 Nov;9(11):2520-2531.
13. Gibson T, Medawar PB. The fate of skin homografts in man. *J Anat* 1943;77(4):299-310.4.
14. Park H. 'The shape of the human being as a function of time': time, transplantation, and tolerance in Peter Brian Medawar's research, 1937-1956. *Endeavour* 2010;34(3):112-121.
15. Janeway C, Travers P. *Immunobiology: the immune system in health and disease*. Garland Science. New York 2005, 6. Auflage, ISBN: 0-8153-4101-6
16. Mandelcorn Monson R, Shear N, Yau E, Sambhara S, Barber B, Spaner D, et al. Cytotoxic T lymphocyte reactivity to gp100, MelanA/MART-1, and tyrosinase, in HLA-A2-positive vitiligo patients. *J Invest Dermatol* 2003;121(3):550-556.
17. Solez K. History of the Banff classification of allograft pathology as it approaches its 20th year. *Curr Opin Organ Transplant* 2010;15(1):49-51.
18. Weidemann A, Büttner M, Amann K, Wiesener M. BANFF-Klassifikation der Histologie von Nierentransplantaten und therapeutische Konsequenzen. *Der Nephrologe* 2015;2(10):113-123.
19. Game D, Lechler R. Pathways of allorecognition: implications for transplantation tolerance. *Transpl Immunol* 2002;10(2-3):101-108.
20. Caballero A, Fernandez N, Lavado R, Bravo MJ, Miranda JM, Alonso A. Tolerogenic response: allorecognition pathways. *Transpl Immunol* 2006;17(1):3-6.
21. Ali JM, Bolton EM, Bradley JA, Pettigrew GJ. Allorecognition pathways in transplant rejection and tolerance. *Transplantation* 2013 Oct 27;96(8):681-688.
22. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2009 Nov;9 Suppl 3:S1-155.

23. Gondos A, Dohler B, Brenner H, Opelz G. Kidney graft survival in Europe and the United States: strikingly different long-term outcomes. *Transplantation* 2013 Jan 27;95(2):267-274.
24. Joosten SA, van Kooten C, Paul LC. Pathogenesis of chronic allograft rejection. *Transpl Int* 2003 Mar;16(3):137-145.
25. Kissmeyer-Nielsen F, Olsen S, Petersen VP, Fjeldborg O. Hyperacute rejection of kidney allografts, associated with pre-existing humoral antibodies against donor cells. *Lancet* 1966 Sep 24;2(7465):662-665.
26. Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Engl J Med* 1969 Apr 3;280(14):735-739.
27. Marfo K, Lu A, Ling M, Akalin E. Desensitization protocols and their outcome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011 Apr;6(4):922-936.
28. Loupy A, Lefaucheur C, Vernerey D, Prugger C, Duong van Huyen JP, Mooney N, et al. Complement-binding anti-HLA antibodies and kidney-allograft survival. *N Engl J Med* 2013 Sep 26;369(13):1215-1226.
29. Hourmant M, Cesbron-Gautier A, Terasaki PI, Mizutani K, Moreau A, Meurette A, et al. Frequency and clinical implications of development of donor-specific and non-donor-specific HLA antibodies after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2005 Sep;16(9):2804-2812.
30. Kim JJ, Balasubramanian R, Michaelides G, Wittenhagen P, Sebire NJ, Mamode N, et al. The clinical spectrum of de novo donor-specific antibodies in pediatric renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2014 Oct;14(10):2350-2358.
31. Colvin RB, Smith RN. Antibody-mediated organ-allograft rejection. *Nat Rev Immunol* 2005 Oct;5(10):807-817.
32. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 2008 Apr;8(4):753-760.
33. Haas M, Sis B, Racusen LC, Solez K, Glotz D, Colvin RB, et al. Banff 2013 meeting report: inclusion of c4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am J Transplant* 2014 Feb;14(2):272-283.
34. Cohen D, Colvin RB, Daha MR, Drachenberg CB, Haas M, Nickenleit V, et al. Pros and cons for C4d as a biomarker. *Kidney Int* 2012 Apr;81(7):628-639.

35. Sis B, Halloran PF. Endothelial transcripts uncover a previously unknown phenotype: C4d-negative antibody-mediated rejection. *Curr Opin Organ Transplant* 2010 Feb;15(1):42-48.
36. Hirohashi T, Uehara S, Chase CM, DellaPelle P, Madsen JC, Russell PS, et al. Complement independent antibody-mediated endarteritis and transplant arteriopathy in mice. *Am J Transplant* 2010 Mar;10(3):510-517.
37. Jindra PT, Jin YP, Rozengurt E, Reed EF. HLA class I antibody-mediated endothelial cell proliferation via the mTOR pathway. *J Immunol* 2008 Feb 15;180(4):2357-2366.
38. Sellares J, Reeve J, Loupy A, Mengel M, Sis B, Skene A, et al. Molecular diagnosis of antibody-mediated rejection in human kidney transplants. *Am J Transplant* 2013 Apr;13(4):971-983.
39. Sis B, Jhangri GS, Bunnag S, Allanach K, Kaplan B, Halloran PF. Endothelial gene expression in kidney transplants with alloantibody indicates antibody-mediated damage despite lack of C4d staining. *Am J Transplant* 2009 Oct;9(10):2312-2323.
40. Loupy A, Jordan SC. Transplantation: Donor-specific HLA antibodies and renal allograft failure. *Nat Rev Nephrol* 2013 Mar;9(3):130-131.
41. Fotheringham J, Angel C, Goodwin J, Harmer AW, McKane WS. Natural history of proteinuria in renal transplant recipients developing de novo human leukocyte antigen antibodies. *Transplantation* 2011 May 15;91(9):991-996.
42. Sadaka B, Alloway RR, Woodle ES. Management of antibody-mediated rejection in transplantation. *Surg Clin North Am* 2013 Dec;93(6):1451-1466.
43. Kreuzer M, Prufe J, Oldhafer M, Bethe D, Dierks ML, Muther S, et al. Transitional Care and Adherence of Adolescents and Young Adults After Kidney Transplantation in Germany and Austria: A Binational Observatory Census Within the TRANSNephro Trial. *Medicine (Baltimore)* 2015 Dec;94(48):e2196.
44. Djamali A, Kaufman DB, Ellis TM, Zhong W, Matas A, Samaniego M. Diagnosis and management of antibody-mediated rejection: current status and novel approaches. *Am J Transplant* 2014 Feb;14(2):255-271.
45. Burton SA, Amir N, Asbury A, Lange A, Hardinger KL. Treatment of antibody-mediated rejection in renal transplant patients: a clinical practice survey. *Clin Transplant* 2015 Feb;29(2):118-123.

46. Montgomery RA, Zachary AA, Racusen LC, Leffell MS, King KE, Burdick J, et al. Plasmapheresis and intravenous immune globulin provides effective rescue therapy for refractory humoral rejection and allows kidneys to be successfully transplanted into cross-match-positive recipients. *Transplantation* 2000 Sep 27;70(6):887-895.
47. Rocha PN, Butterly DW, Greenberg A, Reddan DN, Tuttle-Newhall J, Collins BH, et al. Beneficial effect of plasmapheresis and intravenous immunoglobulin on renal allograft survival of patients with acute humoral rejection. *Transplantation* 2003 May 15;75(9):1490-1495.
48. Misanovic V, Pokrajac D, Zubcevic S, Hadzimuratovic A, Rahmanovic S, Dizdar S, et al. Plasmapheresis in Pediatric Intensive Care Unit. *Med Arch* 2016 Oct;70(5):332-335.
49. Salama AD, Pusey CD. Drug insight: rituximab in renal disease and transplantation. *Nat Clin Pract Nephrol* 2006 Apr;2(4):221-230
50. Billing H, Rieger S, Susal C, Waldherr R, Opelz G, Wuhl E, et al. IVIG and rituximab for treatment of chronic antibody-mediated rejection: a prospective study in paediatric renal transplantation with a 2-year follow-up. *Transpl Int* 2012 Nov;25(11):1165-1173.
51. Montgomery RA, Orandi BJ, Racusen L, Jackson AM, Garonzik-Wang JM, Shah T, et al. Plasma-Derived C1 Esterase Inhibitor for Acute Antibody-Mediated Rejection Following Kidney Transplantation: Results of a Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Pilot Study. *Am J Transplant* 2016 Dec;16(12):3468-3478.
52. Choi J, Aubert O, Vo A, Loupy A, Haas M, Puliyananda D, et al. Assessment of Tocilizumab (Anti-Interleukin-6 Receptor Monoclonal) as a Potential Treatment for Chronic Antibody-Mediated Rejection and Transplant Glomerulopathy in HLA-Sensitized Renal Allograft Recipients. *Am J Transplant* 2017 Sep;17(9):2381-2389.
53. Parsons RF, Yu M, Vivek K, Zekavat G, Rostami SY, Ziaie AS, et al. Murine islet allograft tolerance upon blockade of the B-lymphocyte stimulator, BLyS/BAFF. *Transplantation* 2012 Apr 15;93(7):676-685.
54. Webber A, Hirose R, Vincenti F. Novel strategies in immunosuppression: issues in perspective. *Transplantation* 2011 May 27;91(10):1057-1064.
55. Chih S, Tinckam KJ, Ross HJ. A survey of current practice for antibody-mediated rejection in heart transplantation. *Am J Transplant* 2013 Apr;13(4):1069-1074.
56. Gaber AO, Monaco AP, Russell JA, Lebranchu Y, Mohty M. Rabbit antithymocyte globulin (thymoglobulin): 25 years and new frontiers in solid organ transplantation and haematology. *Drugs* 2010 Apr 16;70(6):691-732.

57. Metchnikoff E. Études sur la résorption des cellules. *Ann Inst Pasteur (Paris)* 1899;13:737.
58. Alexandre G, Wonigeit K, Bunzendahl H. Immunsuppression. In: Pichlmayr R, editor. *Kirschnersche allgemeine und spezielle Operationslehre, Transplantationschirurgie* Berlin: ISBN 978-3-642-67966-7. Springer-Verlag; 1981. p. 205-265.
59. Fachinformation Thymoglobline 5mg/ml. Sanofi Genzyme, Naarden 2015 Nov; Zulassungsnummer: 191a/92; Available at: <https://mein.sanofi.de/produkte/Thymoglobuline/Downloads?id=8dad2d30-37a6-45dd-a5dd-d773d0938394>. Accessed 30.01.2018.
60. Mohty M. Mechanisms of action of antithymocyte globulin: T-cell depletion and beyond. *Leukemia* 2007 Jul;21(7):1387-1394.
61. Genestier L, Fournel S, Flacher M, Assossou O, Revillard JP, Bonnefoy-Berard N. Induction of Fas (Apo-1, CD95)-mediated apoptosis of activated lymphocytes by polyclonal antithymocyte globulins. *Blood* 1998 Apr 1;91(7):2360-2368.
62. Kho MM, Bouvy AP, Cadogan M, Kraaijeveld R, Baan CC, Weimar W. The effect of low and ultra-low dosages Thymoglobulin on peripheral T, B and NK cells in kidney transplant recipients. *Transpl Immunol* 2012 Jun;26(4):186-190.
63. Buchler M, Longuet H, Lemoine R, Herr F, Gatault P, Thibault G, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies of two different rabbit antithymocyte globulin dosing regimens: results of a randomized trial. *Transpl Immunol* 2013 Mar;28(2-3):120-126.
64. Ramos EJ, Pollinger HS, Stegall MD, Gloor JM, Dogan A, Grande JP. The effect of desensitization protocols on human splenic B-cell populations in vivo. *Am J Transplant* 2007 Feb;7(2):402-407.
65. Gurkan S, Luan Y, Dhillon N, Allam SR, Montague T, Bromberg JS, et al. Immune reconstitution following rabbit antithymocyte globulin. *Am J Transplant* 2010 Sep;10(9):2132-2141.
66. Pankewycz O, Leca N, Kohli R, Wallace PK, Said M, Feng L, et al. Low-dose rabbit antithymocyte globulin induction therapy results in prolonged selective lymphocyte depletion irrespective of maintenance immunosuppression. *Transplant Proc* 2011 Mar;43(2):462-465.
67. Pascual J, Zuckermann A, Djamali A, Hertig A, Naesens M. Rabbit antithymocyte globulin and donor-specific antibodies in kidney transplantation--A review. *Transplant Rev (Orlando)* 2016 Apr;30(2):85-91.

68. Brokhof MM, Sollinger HW, Hager DR, Muth BL, Pirsch JD, Fernandez LA, et al. Antithymocyte globulin is associated with a lower incidence of de novo donor-specific antibodies in moderately sensitized renal transplant recipients. *Transplantation* 2014 Mar 27;97(6):612-617.
69. Schwartz G, Muñoz A, Schneider M, Mak R, Kaskel F, Warady B, et al. New equations to estimate GFR in children with CKD. *J Am Soc Nephrol* 2009;20(3):629-637. *Soc Nephrol* 2009;20(3):629-637.
70. Sayer DC, Whidborne R, De Santis D, Rozemuller EH, Christiansen FT, Tilanus MG. A multicenter international evaluation of single-tube amplification protocols for sequencing-based typing of HLA-DRB1 and HLA-DRB3,4,5. *Tissue Antigens* 2004 May;63(5):412-423.
71. Sayer D, Whidborne R, Brestovac B, Trimboli F, Witt C, Christiansen F. HLA-DRB1 DNA sequencing based typing: an approach suitable for high throughput typing including unrelated bone marrow registry donors. *Tissue Antigens* 2001 Jan;57(1):46-54.
72. Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens* 1992 May;39(5):225-235.
73. Olerup O, Zetterquist H. HLA-DRB1*01 subtyping by allele-specific PCR amplification: a sensitive, specific and rapid technique. *Tissue Antigens* 1991 May;37(5):197-204.
74. Süsal C, Opelz G. Current role of human leukocyte antigen matching in kidney transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2013 Aug;18(4):438-444.
75. Richtlinie zur medizinischen Beurteilung von Organspendern und zur Konservierung von Spenderorganen gemäß § 16 Abs. 1 S. 1 Nr. 4 a) und b) TPG. 23.04.2015; Available at: http://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user_upload/downloads/pdf-Ordner/RL/RiliOrgaEmpfaengerschutzMedBeurt20150424.pdf. Accessed 30.12.2017.
76. Terasaki P, McClelland J. Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature* 1964;204:998-1000.
77. Tait B, Süsal C, Gebel H, Nickerson P, Zachary A, Claas FHJ, et al. Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and non-HLA antibodies in transplantation. *Transplantation* 2013;95(1):19-47.

78. Eskandary F, Bond G, Regele H, Kozakowski N, Kikic Z, Wahrmann M, et al. Late Antibody-Mediated Rejection in a Large Prospective Cross-Sectional Study of Kidney Allograft Recipients-Preliminary Results of the Screening Phase of the BORTEJECT Trial. *Clin Transpl* 2014;189-195.
79. Malheiro J, Tafulo S, Dias L, Martins LS, Fonseca I, Beirao I, et al. Analysis of pre-formed donor-specific anti-HLA antibodies characteristics for prediction of antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *Transpl Immunol* 2015 Mar;32(2):66-71.
80. Gupta A, Murillo D, Yarlagadda SG, Wang CJ, Nawabi A, Schmitt T, et al. Donor-specific antibodies present at the time of kidney transplantation in immunologically unmodified patients increase the risk of acute rejection. *Transpl Immunol* 2016 Jul;37:18-22.
81. Pape L, Offner G, Kreuzer M, Froede K, Drube J, Kanzelmeyer N, et al. De novo therapy with everolimus, low-dose ciclosporine A, basiliximab and steroid elimination in pediatric kidney transplantation. *Am J Transplant* 2010 Oct;10(10):2349-2354.
82. Pape L, Lehner F, Blume C, Ahlenstiel T. Pediatric kidney transplantation followed by de novo therapy with everolimus, low-dose cyclosporine A, and steroid elimination: 3-year data. *Transplantation* 2011 Sep 27;92(6):658-662.
83. Walsh RC, Alloway RR, Girnita AL, Woodle ES. Proteasome inhibitor-based therapy for antibody-mediated rejection. *Kidney Int* 2012 Jun;81(11):1067-1074.
84. Lerch C, Kanzelmeyer NK, Ahlenstiel-Grunow T, Froede K, Kreuzer M, Drube J, et al. Belatacept after kidney transplantation in adolescents: a retrospective study. *Transpl Int* 2017 May;30(5):494-501.
85. Reed EF, Rao P, Zhang Z, Gebel H, Bray RA, Guleria I, et al. Comprehensive assessment and standardization of solid phase multiplex-bead arrays for the detection of antibodies to HLA. *Am J Transplant* 2013 Jul;13(7):1859-1870.
86. Tagliamacco A, Cioni M, Comoli P, Ramondetta M, Brambilla C, Trivelli A, et al. DQ molecules are the principal stimulators of de novo donor-specific antibodies in non-sensitized pediatric recipients receiving a first kidney transplant. *Transpl Int* 2014 Jul;27(7):667-673.
87. Vo AA, Lukovsky M, Toyoda M, Wang J, Reinsmoen NL, Lai CH, et al. Rituximab and intravenous immune globulin for desensitization during renal transplantation. *N Engl J Med* 2008 Jul 17;359(3):242-251.

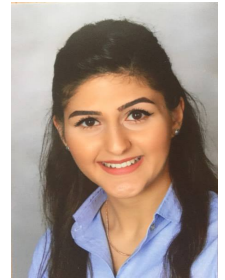
88. Jackson AM, Kraus ES, Orandi BJ, Segev DL, Montgomery RA, Zachary AA. A closer look at rituximab induction on HLA antibody rebound following HLA-incompatible kidney transplantation. *Kidney Int* 2015 Feb;87(2):409-416.
89. Kizilbash S, Claes D, Ashoor I, Chen A, Jandeska S, Matar R, et al. Bortezomib in the treatment of antibody-mediated rejection in pediatric kidney transplant recipients: A multicenter Midwest Pediatric Nephrology Consortium study. *Pediatr Transplant* 2017;21(3).
90. Sberro-Soussan R, Zuber J, Suberbielle-Boissel C, Candon S, Martinez F, Snanoudj R, et al. Bortezomib as the sole post-renal transplantation desensitization agent does not decrease donor-specific anti-HLA antibodies. *Am J Transplant* 2010 Mar;10(3):681-686.
91. Eskandary F, Regele H, Baumann L, Bond G, Kozakowski N, Wahrmann M, et al. A Randomized Trial of Bortezomib in Late Antibody-Mediated Kidney Transplant Rejection. *J Am Soc Nephrol* 2017.
92. Haririan A. Current status of the evaluation and management of antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2015;24(6):576-581.
93. Fremeaux-Bacchi V, Legendre CM. The emerging role of complement inhibitors in transplantation. *Kidney Int* 2015 Nov;88(5):967-973.
94. Kulkarni S, Kirkiles-Smith NC, Deng YH, Formica RN, Moeckel G, Broecker V, et al. Eculizumab Therapy for Chronic Antibody-Mediated Injury in Kidney Transplant Recipients: A Pilot Randomized Controlled Trial. *Am J Transplant* 2017 Mar;17(3):682-691.
95. Becker YT, Becker BN, Pirsch JD, Sollinger HW. Rituximab as treatment for refractory kidney transplant rejection. *Am J Transplant* 2004 Jun;4(6):996-1001.
96. Zheng J, Xue W, Qing X, Jing X, Hou J, Tian X, et al. Treatment of Biopsy-Proven Acute Antibody-Mediated Rejection Using Thymoglobulin (ATG) Monotherapy and a Combination of Rituximab, Intravenous Immunoglobulin, and Plasmapheresis: Lesson Learned from Primary Experience. *Clin Transpl* 2014:223-230.
97. Chehade H, Rotman S, Matter M, Girardin E, Aubert V, Pascual M. Eculizumab to treat antibody-mediated rejection in a 7-year-old kidney transplant recipient. *Pediatrics* 2015 Feb;135(2):e551-5.
98. Kutzler HL, Ye X, Rochon C, Martin ST. Administration of Antithymocyte Globulin (Rabbit) to Treat a Severe, Mixed Rejection Episode in a Pregnant Renal Transplant Recipient. *Pharmacotherapy* 2016 Apr;36(4):e18-22.

99. Rodríguez Reimundes E, Buron F, Chauvet C, Daoud S, Thaunat O, Brunet M, et al. Retreatment by antithymocyte globulin for second kidney transplantation: efficacy, tolerance and safety. *Transpl Immunol* 2013;28(1):6-8.
100. Hertig A, Zuckermann A. Rabbit antithymocyte globulin induction and risk of posttransplant lymphoproliferative disease in adult and pediatric solid organ transplantation: An update. *Transpl Immunol* 2015 Jun;32(3):179-187.
101. Mohty M, Bacigalupo A, Saliba F, Zuckermann A, Morelon E, Lebranchu Y. New directions for rabbit antithymocyte globulin (Thymoglobulin((R))) in solid organ transplants, stem cell transplants and autoimmunity. *Drugs* 2014 Sep;74(14):1605-1634.
102. Sellares J, de Freitas DG, Mengel M, Reeve J, Einecke G, Sis B, et al. Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *Am J Transplant* 2012 Feb;12(2):388-399.
103. O'Leary JG, Samaniego M, Barrio MC, Potena L, Zeevi A, Djamali A, et al. The Influence of Immunosuppressive Agents on the Risk of De Novo Donor-Specific HLA Antibody Production in Solid Organ Transplant Recipients. *Transplantation* 2016 Jan;100(1):39-53.
104. Popow I, Leitner J, Grabmeier-Pfistershammer K, Majdic O, Zlabinger GJ, Kundi M, et al. A comprehensive and quantitative analysis of the major specificities in rabbit antithymocyte globulin preparations. *Am J Transplant* 2013 Dec;13(12):3103-3113.
105. Rebellato LM, Gross U, Verbanac KM, Thomas JM. A comprehensive definition of the major antibody specificities in polyclonal rabbit antithymocyte globulin. *Transplantation* 1994 Mar 15;57(5):685-694.
106. Zand MS, Vo T, Huggins J, Felgar R, Liesveld J, Pellegrin T, et al. Polyclonal rabbit antithymocyte globulin triggers B-cell and plasma cell apoptosis by multiple pathways. *Transplantation* 2005 Jun 15;79(11):1507-1515.
107. Kohei N, Tanaka T, Tanabe K, Masumori N, Dvorina N, Valujskikh A, et al. Natural killer cells play a critical role in mediating inflammation and graft failure during antibody-mediated rejection of kidney allografts. *Kidney Int* 2016 Jun;89(6):1293-1306.
108. Fachinformation MabThera ® i.v. Roche, Welwyn Garden City 2018 Jan; Zulassungsnummer: EU/1/98/067/001; Available at: <https://www.roche.de/dok/MabThera-reg-100-mg500-mg-fachinfo-0-na-attach.pdf>. Accessed 01.02.2018.
109. Kamburova EG, Koenen HJ, Borgman KJ, ten Berge IJ, Joosten I, Hilbrands LB. A single dose of rituximab does not deplete B cells in secondary lymphoid organs but alters phenotype and function. *Am J Transplant* 2013 Jun;13(6):1503-1511.

110. Kamar N, Milioto O, Puissant-Lubrano B, Esposito L, Pierre MC, Mohamed AO, et al. Incidence and predictive factors for infectious disease after rituximab therapy in kidney-transplant patients. *Am J Transplant* 2010 Jan;10(1):89-98.
111. Pearl MH, Nayak AB, Ettenger RB, Puliyananda D, Palma Diaz MF, Zhang Q, et al. Bortezomib may stabilize pediatric renal transplant recipients with antibody-mediated rejection. *Pediatr Nephrol* 2016 Aug;31(8):1341-1348.

Curriculum Vitae

Yasemen Cihan, geb. 16.12.1991 in Salzgitter

Ausbildung

- Seit 04/2018: Assistenzärztin, Hautklinik des Klinikums Bielefeld
 12/2017: Dritte Abschnitt der Ärztlichen Prüfung mit der Note „sehr gut“
 10/2016: Zweite Abschnitt der Ärztlichen Prüfung mit der Note „gut“
 02/2013: Erste Abschnitt der Ärztlichen Prüfung mit der Note „gut“
 11/2016 - 12/2017: Praktische Jahr an der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH)
 1. Terial: Hautklinik der MHH (Prof. Dr. A. Kapp)
 2. Terial: Chirurgie Klinikum Braunschweig (Prof. Dr.Dr.h.c. G.Schumacher)
 3. Terial: Innere Medizin Klinikum Braunschweig (Prof. Dr. J. Kielstein)
 10/2011 - 10/2016: Medizinstudium an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (HHU)
 08/2011: Erlangung der Allgemeinen Hochschulreife am Gymnasium Salzgitter-Bad

Famulaturen

- 09/2015: Klinik für Dermatologie und Venerologie des Klinikums Bafra (TR) (Dr. med. Tarim)
 08/2015: Kinderheilkunde und Jugendmedizin Praxis Salzgitter (Dr. med. Würtenberger)
 02/2015: Klinik für Neurochirurgie des Klinikums Braunschweig (Prof. Dr. W.P.Sollmann)
 09/2014: Klinik für Anästhesiologie des Klinikums Braunschweig (Prof. Dr. P.Werning)
 08/2014: Zentrale Notaufnahme des Anadolu Hospitals Antalya (Dr. med. Özsüer)
 03-04/2014: Klinik für Allgemein Chirurgie des Klinikums Salzgitter (Dr. med. Wurlitzer)

Stipendien/Auszeichnungen

- 10/2016: Zertifikat über herausragende Leistungen im Praxisunterricht des Studiengangs Humanmedizin der Universität Düsseldorf
 10/14 - 10/16: Stipendiatin des Deutschlandstipendiums des Bundesministeriums für Bildung und Forschung
 10/2011: Auszeichnung der Leistungen im Abitur durch das „Präsidium für Auslandstürken und verwandte Gemeinschaften der Republik Türkei“

Bisherige Tätigkeiten/Ehrenamt

- 11/2016 - 02/2017: Medizinische Aushilfe im KFHM, Betreuung einer Schlafstudie
 10/2015 - 10/2016: Koordinatorin für Schulplanung des Präventionsprogramms: Aufklärung gegen Tabakkonsum HHU
 10/2013 - 04/2016: Tutorin für Lumbalpunktion des Trainingszentrums für ärztliche Fertigkeiten der HHU

Kenntnisse

- 11/2017: Sonographie Abdomen Fortbildungsveranstaltung der DTM-NRW
 04/2014 - 07/2014: Grundkurs Sonographie, Note „sehr gut“ (PD Dr.med. M.Hofer, MME)
 Sprachen: Deutsch: Muttersprachenniveau, Englisch: Sehr gut, Türkisch: Muttersprachenniveau
 EDV: Office Anwendungen: MSWord sehr gut, MSPowerPoint: sehr gut, MSExcel: sehr gut

Salzgitter, 14.09.2018

Erklärung nach § 2 Abs. 2 Nr. 6 und 7 PromO

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Hochschule Hannover zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

**„Kaninchen Anti-Human-Thymozyten-Immunglobulin als Rescue-Therapie
bei chronisch-humoraler (antikörpervermittelter) Rejektion
nach pädiatrischer Nierentransplantation“**

im Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin in der Klinik für Pädiatrische Nieren-, Leber- und Stoffwechselerkrankungen der Medizinischen Hochschule Hannover unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. med. Lars Pape mit der Unterstützung durch Dr. med. Nele Kancelmeyer ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Die Gelegenheit zum vorliegenden Promotionsverfahren ist mir nicht kommerziell vermittelt worden. Insbesondere habe ich keine Organisation eingeschaltet, die gegen Entgelt Betreuerinnen und Betreuer für die Anfertigung von Dissertationen sucht oder die mir obliegenden Pflichten hinsichtlich der Prüfungsleistungen für mich ganz oder teilweise erledigt.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Weiterhin versichere ich, dass ich den beantragten Titel bisher noch nicht erworben habe.

Ergebnisse der Dissertation wurden in folgendem Publikationsorgan veröffentlicht:

Pediatric Nephrology, publiziert am 17.07.2017.

Hannover, den 06.03.2017

Yasemen Cihan

Danksagung

Mein größter Dank gilt an Herrn Prof. Dr. med. Lars Pape für die freundliche Überlassung des interessanten Themas, exzellente Betreuung und wissenschaftliche Unterstützung sowie entgegengebrachte Vertrauen.

Den Mitautorinnen und Mitautoren, insbesondere Frau Dr. Kanzelmeyer, danke ich für die Zusammenarbeit und Unterstützung.

Ebenso habe ich mich bei Frau Verboom aus dem Institut für Transfusionsmedizin der Medizinischen Hochschule Hannover für die Kooperation in dem Gebiet der Evaluation der Donorspezifischen Antikörper zu bedanken.

Dem nichtärztlichen und ärztlichen Personal des KfH-Nierenzentrums für Kinder und Jugendliche an der Medizinischen Hochschule Hannover danke ich herzlich für die Hilfsbereitschaft.