

Aus der  
Klinik für Innere Medizin IV  
Nieren- und Hochdruckkrankheiten  
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg  
Klinikdirektor: Prof. Dr. D. Fliser

**Einfluss immunsuppressiver Medikamente auf die  
Monozytenheterogenität bei nierentransplantierten  
Patienten**

Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät  
der Universität des Saarlandes

2014

vorgelegt von  
Johanna Maria Hundsdorfer  
geboren am 29.05.1989 in Ingolstadt

Tag der Promotion:

Dekan: Prof. Dr. M.D. Menger

1. Berichterstatter:

2. Berichterstatter:

**Meiner Familie  
in Liebe und Dankbarkeit gewidmet**

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Zusammenfassung / Summary</b> .....	<b>7</b>
1.1 Zusammenfassung .....	7
1.2 Summary .....	9
<b>2. Einleitung</b> .....	<b>11</b>
2.1 Bedeutung der Nierentransplantation .....	11
2.2 Epidemiologie der kardiovaskulären Erkrankungen bei nierentransplantierten Patienten .....	12
2.3 Kardiovaskuläre Risikofaktoren bei nierentransplantierten Patienten .....	12
2.4 Monozytendysfunktion als Grundlage der Atheroskleroseentstehung .....	14
2.4.1 Atheroskleroseentstehung .....	14
2.4.2 Monozytenheterogenität .....	15
2.4.3 CD16-positive Monozyten .....	15
2.5 Immunsuppressive Medikation nach Transplantation .....	16
2.6 Hypothese: Einfluss der Immunsuppressiva auf die Verteilung der Monozytensubpopulationen .....	17
<b>3. Material und Methoden</b> .....	<b>19</b>
3.1 Probanden und Studienmodell .....	19
3.1.1 Auswahl der Probanden .....	19
3.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien .....	19
3.2 Untersuchungsablauf .....	20
3.2.1 Blut- und Urindiagnostik .....	20
3.2.2 Bestimmung von Monozytensubpopulationen .....	21
3.2.3 Daten- und Anamneseerhebung mittels Fragebogen .....	25
3.2.4 Erfassung anthropometrischer Daten .....	26
3.2.5 Erfassung des kardiovaskulären Risikos .....	27

3.3 Dokumentation und statistische Untersuchungen.....	28
<b>4. Ergebnisse .....</b>	<b>29</b>
4.1 Charakteristik der Kohorte .....	29
4.1.1 Allgemein.....	29
4.1.2 Patientencharakterisika .....	29
4.2 Zusammenhang von Monozyten und kardiovaskulären Risikofaktoren / prävalenten kardiovaskulären Ereignissen .....	34
4.3 Monozyten und immunsuppressive Medikamente .....	36
4.3.1 Monozyten unter Steroiden bzw. mTOR-Inhibitoren.....	36
4.3.2 Monozyten unter MMF / MPA bzw. CNI .....	44
<b>5. Diskussion.....</b>	<b>45</b>
5.1 Erhöhte Mortalität aufgrund kardiovaskulärer Erkrankungen bei nierentransplantierten Patienten .....	45
5.2 Immunsuppressive Therapie nierentransplantiertes Patienten.....	47
5.2.1 Grundprinzipien der immunsuppressiven Therapie nach Transplantation .....	47
5.2.2 Wichtigste Vertreter der Immunsuppressiva nach Nierentransplantation .....	47
5.2.3 Wichtige Faktoren zur Auswahl immunsuppressiver Medikamente .....	50
5.2.4 Immunsuppressive Standardtherapie .....	50
5.2.5 CNI-freie, mTOR-Inhibitor-basierte Immunsuppression .....	51
5.2.6 Steroidfreie Immunsuppression .....	55
5.2.7 Vergleich der HOme Alone Studie mit Voruntersuchungen.....	58
5.3 Bedeutung der Monozytensubpopulationen in der Atherogenese .....	62
5.4 Zusammenhang von Monozytensubpopulationen und kardiovaskulären Risikofaktoren / Erkrankungen.....	63
5.5 Einfluss immunsuppressiver Medikamente auf die Verteilung der Monozytensubpopulationen.....	70
5.5.1 Einfluss von Steroiden auf die Monozytensubpopulationen .....	70
5.5.2 Einfluss von mTOR-Inhibitoren auf die Monozytensubpopulationen.....	72

5.6 Limitationen.....	74
5.7 Zusammenfassung und Ausblick.....	74
<b>6. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>76</b>
<b>7. Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>98</b>
<b>8. Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>99</b>
<b>9. Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>101</b>
<b>10. Danksagung.....</b>	<b>105</b>
<b>11. Publikation / Präsentation von Teilergebnissen der Arbeit.....</b>	<b>106</b>
11.1. Publikation von Teilergebnissen der Promotionsarbeit.....	106
11.2. Präsentation von Teilergebnissen der Promotionsarbeit .....	106
<b>12. Anhang .....</b>	<b>108</b>
12.1 Datenerhebungsbogen .....	108
12.2 Detaillierte Darstellung der immunsuppressiven Medikation .....	114
12.3 Monozytenzahlen, kardiovaskuläre Risikofaktoren und prävalente kardiovaskuläre Ereignisse: Subgruppenanalysen von Patienten mit und ohne Steroidmedikation.....	117

# 1. Zusammenfassung / Summary

## 1.1 Zusammenfassung

### Einleitung:

Die allogene Nierentransplantation stellt gegenüber einer Dialysebehandlung die prognostisch überlegenere Therapie für Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz dar. Gegenüber nierengesunden Menschen haben Patienten nach allogener Nierentransplantation dennoch eine deutlich erhöhte kardiovaskuläre Ereignisrate. Neben klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren tragen zur beschleunigten Atherosklerose und so zur Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen bei nierentransplantierten Patienten weitere, transplantations-assoziierte Risikofaktoren bei, zu denen insbesondere eine chronische Inflammation mit Monozytendysfunktion zählt. Monozyten sind eine heterogene Zellpopulation; innerhalb der Monozytensubpopulationen (klassische CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>, intermediäre CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> und nicht-klassische CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup> Monozyten) wird vor allem den intermediären Monozyten eine proinflammatorische Bedeutung zugeschrieben. Präliminäre Daten suggerieren, dass Immunsuppressiva die Verteilung der Monozytensubpopulationen beeinflussen.

In einer Kohortenstudie soll nun überprüft werden, inwieweit einerseits die Einnahme von Steroiden, andererseits die Einnahme von mTOR-Inhibitoren die Verteilung der Monozytensubpopulationen bei nierentransplantierten Patienten beeinflusst.

### Methodik:

Die HOME Alone Studie (**H**eterogeneity of **M**onocytes and **E**chocardiography among **al**lograft recipients in **n**ephrology) rekrutierte von Mai 2012 bis Oktober 2013 insgesamt 159 nierentransplantierte Patienten. Alle Patienten waren seit mindestens 12 Monaten transplantiert. Bei allen Studienteilnehmern wurden klassische und nicht-klassische kardiovaskuläre Risikofaktoren und Nierenfunktionsparameter bestimmt. Die Messung der Monozytensubpopulationen erfolgte mittels Durchflusszytometrie.

### Ergebnisse:

Patienten unter Steroid-Einnahme wiesen höhere Zellzahlen von Gesamtmonozyten, klassischen und intermediären Monozyten, jedoch geringere Zellzahlen nicht-klassischer

Monozyten auf als Patienten ohne Steroid-Einnahme. Es bestanden keine Unterschiede in den Zellzahlen der Gesamtmonozyten und der Monozytensubpopulationen zwischen Patienten mit und ohne Einnahme von mTOR-Inhibitoren. Ebenso ließen sich nach Stratifizierung für andere Immunsuppressiva keine Unterschiede der Zellzahlen der Monozytensubpopulationen feststellen. Nebenfundlich zeigte sich eine positive Korrelation zwischen den Zellzahlen der nicht-klassischen Monozyten und dem Body-Mass-Index; Raucher wiesen weniger nicht-klassische Monozyten auf als Nichtraucher.

### **Diskussion:**

Die Querschnittsanalyse der HOME ALONE Studie zeigt einen substanzspezifischen Effekt von Steroiden auf die Verteilung der Monozytensubpopulationen. Insbesondere die höhere Anzahl von intermediären Monozyten bei Patienten mit Steroidmedikation kann durch das proinflammatorische Potential dieser Zellen zur Erhöhung der kardiovaskulären Morbidität und Mortalität nierentransplantierte Patienten beitragen. Die klinische Relevanz dieser Beobachtung muss allerdings zunächst in prospektiven klinischen Studien untersucht werden.

## **1.2 Summary**

### **Introduction:**

Compared to dialysis treatment, allogenic kidney transplantation is the prognostically superior therapeutic option for patients with end-stage renal disease. Nevertheless, renal allograft recipients have significant higher incidences of cardiovascular events, compared to subjects with intact kidney function. In addition to classical cardiovascular risk factors, several transplantation-associated cardiovascular risk factors contribute to accelerated atherosclerosis and thus to the development of cardiovascular disease. Hereby, chronic inflammation with monocytic dysfunction is of particular importance. Heterogeneity of monocytes is widely acknowledged, and three monocyte subsets have been defined (classical CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>, intermediate CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> and nonclassical CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup> monocytes). Among these, intermediate monocytes are considered to specifically exert proinflammatory functions. Preliminary data suggest that immunosuppressive agents can affect the distribution of monocyte subsets.

A cohort study was conducted to examine to which extent the intake of steroids or of mTOR-inhibitors, respectively, affects the distribution of monocyte subpopulations in kidney allograft recipients.

### **Methods:**

From May 2012 to October 2013, the HOME Alone cohort study (**H**eterogeneity of **M**onocytes and **E**chocardiography among **al**lograft recipients in **n**ephrology) recruited 159 kidney allograft recipients. All patients have been transplanted at least since 12 months. We assessed classical and nonclassical cardiovascular risk factors and parameters of renal function. Monocyte subset measurement was performed flow cytometrically.

### **Results:**

Patients with steroid intake have higher counts of total monocytes, classical monocytes and intermediate monocyte compared to patients without steroid medication. In contrast, counts of nonclassical monocytes were lower in patients on steroid treatment. No differences in total monocyte counts and in monocytes subset counts were found after stratifying patients by intake of mTOR-inhibitors. Similarly, no differences were found after stratifying patients by intake of other immunosuppressive drugs. Secondary findings comprise positive correlation

of nonclassical monocyte counts and body-mass-index; smokers have lower nonclassical monocyte counts than non-smokers.

**Discussion:**

These cross-sectional analyses of the HOMe Alone Study point toward a specific effect of steroids onto the distribution of monocyte subsets. Given their proinflammatory character, an increase in intermediate monocyte counts among renal allograft recipients on steroid treatment may contribute to cardiovascular morbidity and mortality. However, the clinical relevance of this observation has to be examined in further prospective clinical studies.

## **2. Einleitung**

### **2.1 Bedeutung der Nierentransplantation**

Die Nierentransplantation gilt für Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz als Therapie der Wahl (4). Gegenüber anderen Nierenersatztherapien wie der Hämodialyse und Peritonealdialyse geht die Nierentransplantation mit einer höheren Lebensqualität (165, 131), einer besseren medizinischen, psychischen und sozialen Rehabilitation (44, 38) und mit geringeren Gesundheitskosten (107) einher. Darüber hinaus zeigen Kohortenstudien, dass sogar das Gesamtüberleben terminal nierenkranker Menschen nach Nierentransplantation besser ist als bei Patienten, die mittels Dialysetherapie behandelt werden (132, 214).

Da die weltweite Prävalenz der chronischen Nierenerkrankung aktuell auf 8 – 16 % (88) geschätzt wird – und in den letzten Jahren eine Tendenz zu weiterem Anstieg aufwies (4, 24, 172), muss in den nächsten Jahrzehnten auch mit einer weiterer Zunahme der terminalen Niereninsuffizienz gerechnet werden, so dass die Nierentransplantation in Zukunft weiter an Bedeutung gewinnen wird.

Seit der ersten Nierentransplantation in Deutschland im Jahre 1963 wurden bis 2012 über 73 000 Nieren transplantiert (80), in den letzten Jahren circa 2500 Nieren pro Jahr (79, 205). Wegen stagnierender Zahlen von geeigneten Spenderorganen bei gleichzeitig zunehmender Prävalenz der terminalen Niereninsuffizienz warten aktuell alleine in Deutschland knapp 8000 Menschen auf eine Spenderniere (81, 79).

In den frühen Jahrzehnten der Organtransplantation lag der Fokus wissenschaftlicher Interessen auf Verbesserungen chirurgischer Techniken (4) und Entwicklungen potenter immunsuppressiver Therapien (4, 106), um insbesondere die frühe postoperative Phase ohne Verlust des Transplantates zu überstehen (4). Es gelang hierbei eine Verbesserung des Ein-Jahres-Transplantatüberlebens bei post-mortem-Spenden von circa 77 % in den Jahren 1985 – 1989 auf circa 90 % in den Jahren 2005 - 2010, bei Lebendspenden in der gleichen Periode von knapp 90 % auf über 95 % (138). Diese Erfolge der postoperativen Phase mündeten aber nur in einer langsamen, nicht zufriedenstellenden Zunahme der Langzeitprognose (106), so dass aktuelle Untersuchungen ein Zehn-Jahres-Transplantatüberleben von nur 63 % bei post-mortem-Spenden und 77 % bei Lebendspenden aufzeigen (138). Daher fokussierte sich die

Transplantationsmedizin in den letzten Jahren insbesondere auf eine Verbesserung des Langzeiterfolges nach Nierentransplantation (142).

## **2.2 Epidemiologie der kardiovaskulären Erkrankungen bei nierentransplantierten Patienten**

Die häufigste Ursache für einen Transplantatverlust bei allogenen nierentransplantierten Patienten stellt das Versterben des Empfängers mit funktionierendem Transplant dar (112, 55, 150). Dies ist hauptsächlich auf kardiovaskuläre Ereignisse zurückzuführen (136, 112). Zwar weisen nierentransplantierte Patienten ein deutlich geringeres Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse als Dialysepatienten auf, besitzen dennoch ein viel größeres Risiko als die nierengesunde Allgemeinbevölkerung (172). So zeigten die Daten der großen PORT-Studie im Jahre 2010 eine kumulative Inzidenz kardiovaskulärer Ereignisse bei nierentransplantierten Patienten von 3,1 % im ersten Jahr, 5,2 % nach fünf Jahren und 7,6 % nach zehn Jahren (85). Somit ist die Todesrate durch kardiovaskuläre Erkrankungen, speziell durch Myokardinfarkte und Herzinsuffizienz, um ein Vielfaches höher als in der nierengesunden Allgemeinbevölkerung (112, 197).

## **2.3 Kardiovaskuläre Risikofaktoren bei nierentransplantierten Patienten**

Aufgrund der erhöhten kardiovaskulären Morbidität und Mortalität nierentransplantierten Patienten erscheint es essentiell, die kardiovaskulären Risikofaktoren bei dieser Patientengruppe genauer zu definieren.

Da bei nierentransplantierten Menschen neben den klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren noch weitere, nicht-klassische Risikofaktoren zur Entstehung und Progression von Gefäßerkrankungen beitragen, wird mit Risikoscores, beispielsweise dem Framingham-Risikoscore, das kardiovaskuläre Risiko dieser Patienten unterschätzt (183, 172). Shirali und Bia stellten 2008 die Risikofaktoren für die Entwicklung einer kardiovaskulären Erkrankung in einem Übersichtsartikel zusammen (182). Diese sind im Folgenden tabellarisch zusammengefasst (Tabelle 1).

Tabelle 1: Risikofaktoren für die Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen bei nierentransplantierten Patienten [nach Shirali und Bia (182)]

Klassische Risikofaktoren	Transplantations-assozierte Risikofaktoren	Weitere nicht-klassische Risikofaktoren
<p><b>(Potentiell) modifizierbar:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Adipositas (31)</li> <li>- Diabetes mellitus (94)</li> <li>- Hypertonie (94)</li> <li>- Dyslipidämie (94)</li> <li>- Rauchen (95)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Immunsuppression (17)</li> <li>- Dysfunktion / Versagen des Organs (118, 46)</li> <li>- Proteinurie (47)</li> <li>- Anämie (153)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Entzündung: Homozystein (39)</li> <li>CRP (39)</li> <li>AGE (67)</li> </ul>
<p><b>Nicht modifizierbar:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Geschlecht (87)</li> <li>- Alter (94)</li> <li>- Positive Familienanamnese (182)</li> </ul>		

*CRP: C-reaktives Protein; AGE: advanced glycation end products*

2012 wurde auf der Basis der Ergebnisse der ALERT-Studie ein Kalkulator erstellt (185), welcher das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse anhand von Alter, vorbestehender koronarer Herzerkrankung, Prävalenz eines Diabetes mellitus, LDL-Cholesterin, Kreatinin, Anzahl vorheriger Transplantationen und dem Raucherstatus bestimmt; zur Berechnung des Risikos für die Gesamtmortalität werden Alter, koronare Herzerkrankung, Diabetes mellitus, Kreatinin, Raucherstatus und Dauer der Nierenersatztherapie des Patienten benötigt (185).

Generelle Maßnahmen zur Prävention kardiovaskulärer Ereignisse wie Lebensstiländerungen, welche die Prävention von Übergewicht, das Beenden von Rauchen (83, 3) und regelmäßige körperliche Aktivität (141, 222) umfassen, sowie die optimale Behandlung von arterieller Hypertonie (139), Dyslipidämie (76) und Diabetes mellitus (96, 213) sollten nach Transplantation angestrebt werden. Aber auch die Prävention spezieller Risikofaktoren nierentransplantierten Patienten, wie der Erhalt der Nierenfunktion des transplantierten Organs, ist essentiell wichtig (118, 46, 120, 129). Dies kann unter Einbeziehung neuer Immunsuppressiva ermöglicht werden.

## **2.4 Monozytendysfunktion als Grundlage der Atheroskleroseentstehung**

### **2.4.1 Atheroskleroseentstehung**

Die Atherosklerose ist eine progrediente chronisch-inflammatorische Erkrankung der Gefäßwand (160). Atherosklerotische Gefäßläsionen entstehen in den großen und mittelgroßen elastischen und muskulären Arterien und prädisponieren in Abhängigkeit von den erkrankten Gefäßsegmenten zu ischämischen Infarkten in den Endorganen (160, 66).

Der Beginn der Atheroskleroseentstehung liegt in einer Endothelzellen-Aktivierung (220) durch Risikofaktoren wie Rauchen (6), Diabetes mellitus (206), Hypercholesterinämie (160) oder Hypertonie (186) mit daraus resultierender endothelialer Dysfunktion (34). Diese führt über proinflammatorische Stimuli wie  $\text{TNF}\alpha$  (14, 111),  $\text{IL1}\beta$  (125, 111), oxidiertem LDL-Cholesterin (14) und Angiotensin II (63, 101, 7) zu einer Monozytenrekrutierung (224). Nach Adhäsion der Monozyten mittels Adhäsionsmolekülen wie dem VCAM-1 („vascular cell adhesion molecule“) (111) und Diapedese in die Gefäßintima (127) differenzieren sich die Monozyten unter dem Einfluss des Wachstumsfaktors MCSF („macrophage colony-stimulating factor“) zu Makrophagen (66). Mit Hilfe von Scavenger Rezeptoren der Klassen A und B, einer Untergruppe der Pattern Recognition Rezeptoren, können Makrophagen oxidiertes LDL-Cholesterin aufnehmen und sich dadurch zu Schaumzellen umwandeln (60, 105, 111), welche durch proinflammatorische Zytokine oder ROS (Reaktive Sauerstoffspezies) den inflammatorischen Prozess in der Gefäßwand weiter beschleunigen (111). Zudem trägt die Aktivierung von Pattern Recognition Rezeptoren wie der membrangebundenen Toll-like-Rezeptoren 2 und 4 zu weiteren proinflammatorischen Antworten bei (33). Eine Aktivierung des intrazellulären NALP3-Inflammasoms nach Stimulation durch Cholesterinkristalle mündet in einer Bildung und Sekretion von Zytokinen wie  $\text{IL1}\beta$  und  $\text{IL18}$  (40). Über diesen entzündlichen Prozess werden weitere Immunzellen vom Gefäßlumen und glatten Muskelzellen von der Media in die Intima gelockt (220). So entstehen Plaques mit einem nekrotischen Kern und einer Kapsel aus glatten Muskelzellen und einer kollagenreichen Matrix (66). Wird diese Kapsel schließlich durch Proteasen (133) abgebaut, kann eine Ruptur mit Freilegung prothrombotischen Materials auftreten, welches das intravaskuläre Gerinnungssystem aktiviert, so dass eine Thrombenbildung und damit ein Verschluss des Gefäßes droht (53, 204). Dies manifestiert sich klinisch – je nach betroffenem Gefäßsegment – beispielsweise als Apoplex oder akuter Myokardinfarkt (160, 66).

### **2.4.2 Monozytenheterogenität**

Wie dargestellt, sind Monozyten maßgebend am Entstehungsprozess der Atherosklerose beteiligt. Sie sind als Subgruppe der Leukozyten eine essentielle Komponente des angeborenen Immunsystems (155). Abstammend von myelo-monozytären Stammzellen im Knochenmark entstehen über die Zwischenstufe der Myeloblasten die Monozyten, welche eine Halbwertszeit von 1 - 3 Tagen besitzen (225). Nach Übertritt ins periphere Blut treten sie in verschiedene Gewebe ein, um sich dort in Makrophagen und dendritische Zellen umzuwandeln (225, 152, 11). Bereits 1989 kamen Passlick, Fingerle und Ziegler-Heitbrock zur Erkenntnis, dass Monozyten keine einheitliche Gruppe bilden, sondern unterschiedliche Phänotypen und Funktionen besitzen (143).

Phänotypisch werden die Monozytensubpopulationen mit Hilfe der Durchflusszytometrie durch verschiedene Oberflächenmoleküle differenziert (226), wobei CD14 (der Lipopolysaccharid-Co-Rezeptor) und CD16 (der Fc $\gamma$ III-Rezeptor) eine wichtige Rolle spielen (143). Nach aktueller Nomenklatur lassen sich klassische CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>, intermediäre CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> und nicht-klassische CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup> Monozyten unterscheiden (226). Es wird vermutet, dass die Monozytenreifung bei den klassischen Monozyten beginnt und diese sich anschließend zu intermediären und nicht-klassischen Monozyten differenzieren (216).

### **2.4.3 CD16-positive Monozyten**

Innerhalb der Monozytensubpopulationen werden vor allem den CD16-positiven Monozyten, insbesondere den intermediären Monozyten, eine große proinflammatorische Rolle in der humanen Atherogenese zugeschrieben (220). Zu den speziellen Eigenschaften der intermediären Monozyten zählen unter anderem die hohe Produktion von ROS (219), TNF $\alpha$ - und IL1 $\beta$  (32) sowie eine starke Expression des Chemokinrezeptors CCR5 (156), welcher in großen epidemiologischen Studien als ein Atherosklerosemarker postuliert wurde (128, 58). Weitere proinflammatorische Mechanismen der CD16-positiven Monozyten bestehen in der Stimulation der CD4-T-Zell-Proliferation (219), einer starken Aufnahme von oxidiertem LDL-Cholesterin (124) und einer hohen aktivierenden Interaktion mit Blutplättchen (189).

Zudem konnten einige epidemiologische Querschnittsstudien die zentrale Rolle der CD16-positiven Monozyten sowohl in der frühen subklinischen Atherosklerose als auch in der manifesten kardiovaskulären Erkrankung bestätigen (220): nachdem Ulrich et al. 2008 eine signifikante Korrelation zwischen IMT und nicht-klassischen Monozyten bei

nierentransplantierten Patienten beobachten konnten (194), bestätigten Rogacev et al. 2010 diesen Zusammenhang auch an gesunden Probanden im Rahmen der I LIKE HOME Studie (157).

Der Zusammenhang von Monozytensubpopulationen und manifesten kardiovaskulären Erkrankungen wurde in mehreren Studien an Patienten mit koronarer Herzkrankheit untersucht: Schlitt et al. zeigten 2004, dass in einem heterogenen Kollektiv von Patienten mit koronarer Herzerkrankung, welches sowohl Patienten mit stabiler KHK als auch Patienten mit akutem Koronarsyndrom umfasste, höhere Gesamtzahlen von CD16-positiven Zellzahlen vorlagen (177). Kashiwagi und Imanishi et al. konnten 2010 zeigen, dass eine positive Korrelation zwischen der Gesamtzahl der CD16-positiven Monozyten und der Vulnerabilität eines atherosklerotischen Plaques, gemessen anhand der Dicke der Fibrinkappe, besteht (84, 93).

### **2.5 Immunsuppressive Medikation nach Transplantation**

Die Erfolgsgeschichte der Nierentransplantationstherapie, insbesondere in der frühen Phase nach allogener Nierentransplantation ist größtenteils auf die Entwicklung und die klinische Etablierung einer potenten immunsuppressiven Therapie zurückzuführen (149, 190), welche seit den achtziger Jahren des zwanzigsten Jahrhunderts zumeist aus der Kombination eines Calcineurininhibitors, eines Antimetaboliten (initial Azathioprin, später Mykophenolat-Mofetil) und eines Steroids besteht (149, 190, 24).

Das verfügbare Repertoire der immunsuppressiven Medikamente blieb nachfolgend über mehr als zehn Jahre konstant, doch in den letzten 15 Jahren kamen zahlreiche neuere Medikamente auf den Markt (24) und erlaubten durch größere Auswahl und Kombinationsmöglichkeiten (149) eine individualisierte Immunsuppression. So kommen heute neben den etablierten Immunsuppressiva (Steroid, Mykophenolat-Mofetil / Mykophenolsäure, Cyclosporin A, Tacrolimus und Azathioprin) auch neuere Medikamente wie mTOR-Inhibitoren Sirolimus und Everolimus zum Einsatz (149). Man erhoffte sich von diesen neueren Immunsuppressiva insbesondere das Langzeit-Überleben zu verbessern, da sie eine geringere Nephrotoxizität besitzen (21).

Prinzipiell haben immunsuppressive Medikamente drei Effekte:

- den erwünschten therapeutischen Effekt (Unterdrückung der Abstoßungsreaktion) (65)
- (zumeist substanzunspezifische) unerwünschte Folgen der Immunsuppression (erhöhte Gefahr von Infektionen und verringerte Abwehr maligner Zellen mit erhöhter Inzidenz von Malignomen) (65) und
- substanzspezifische Nebenwirkungen jenseits der eigentlichen immunsuppressiven Wirkung (65).

Ein ausgeprägtes Wissen über Wirkmechanismen, Nebenwirkungen und Medikamenteninteraktionen ist essentiell (24). Dabei sollten vor allem neuere Medikamente, von denen wenig Erfahrung hinsichtlich immunsuppressiver Potenz und Nebenwirkungsspektren vorhanden sind, im Fokus neuer Studien stehen (166).

### **2.6 Hypothese: Einfluss der Immunsuppressiva auf die Verteilung der Monozytensubpopulationen**

Die Detektion und Minimierung atherosklerotischer Risikofaktoren stellt die wichtigste Herausforderung für die Sicherung eines langen Patientenüberlebens nach allogener Nierentransplantation dar (136). Da einerseits intermediäre Monozyten aufgrund ihrer proinflammatorischen Charakteristika zur Entstehung atherosklerotischer Plaques beitragen und somit als nicht-traditioneller kardiovaskulärer Risikofaktor betrachtet werden müssen, andererseits immunsuppressive Medikamente direkt auf eine Beeinflussung zirkulierender Immunzellen abzielen, ist es von besonderem Interesse, Interaktionen zwischen immunsuppressiver Medikation und Verteilung der Monozytensubpopulationen zu erkennen und zu beschreiben. Daher ist es das Ziel dieser Arbeit, den Einfluss bestimmter immunsuppressiver Medikamente auf die Zellzahlen der Monozytensubpopulationen, insbesondere der proinflammatorischen intermediären Monozyten, darzustellen.

#### **a) Hypothese 1:**

Bereits 1998 zeigten Fingerle-Rowson et al. bei Patienten mit Multipler Sklerose, dass Steroide die Zellzahlen der Monozytensubpopulationen beeinflussen: während die Zellzahlen der klassischen Monozyten unter Steroideinnahme erhöht waren, fiel die Zellzahl CD16-positiver Monozyten drastisch ab (48). Die intermediären Monozyten wurden aufgrund fehlender Kenntnis über die Dreiteilung der Monozytenpopulation damals noch nicht gemessen. Entscheidende Kenntnisse über den Mechanismus der steroidinduzierten

Reduktion von CD16-positiven Monozyten lieferten Dayyani et al. 2003 mittels *in vivo* und *in vitro* Untersuchungen. Diese zeigten auf, dass die Ursache des Zellzahlabfalls CD16-positiver Monozyten eine induzierte, Caspase-vermittelte, Apoptose der CD16-positiven Monozyten ist (35). Auch diese Arbeit untersuchte intermediäre Monozyten nicht separat.

Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppen gaben erstmals Hinweise auf den Einfluss von Steroiden auf die Monozytenheterogenität nach allogener Nierentransplantation (194): Ulrich et al. zeigten, dass sich unter Steroideinnahme die Zellzahl nicht-klassischer Monozyten verringert, wogegen die intermediären Monozyten weitgehend unbeeinflusst waren. Allerdings fokussierte die Studie auf relative Verschiebungen der Monozytensubpopulationen und nicht auf die – biologisch relevanteren – absoluten Zellzahlen der Subpopulationen.

**Wir stellen nun die Hypothese auf, dass unter Steroideinnahme die Gesamtzahl der klassischen Monozyten erhöht ist, die Zellzahl intermediärer Monozyten unverändert ist, und die Zellzahl der nicht-klassischen Monozyten erniedrigt ist.**

### **b) Hypothese 2:**

Trotz der immunsuppressiven Wirkung von mTOR-Inhibitoren wurden in den letzten Jahren Hinweise auf vermeintlich paradoxe proinflammatorische Wirkungen auf Monozyten berichtet (166). So wurde beschrieben, dass mTOR-Inhibitoren über die Aktivierung von NF- $\kappa$ B die Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine wie IL-12, IL-23 oder IL-6 von Monozyten und myeloiden dendritischen Zellen erhöhen (116, 211). Woltman et al. Zeigten, dass mTOR-Inhibitoren zwar eine Apoptose von dendritischen Zellen, aber nicht von Monozyten, verursachen und *in vitro* tendenziell sogar zum Anstieg der Monozytenpopulation führen (215). Inwieweit diese potentiell proinflammatorischen Effekte von mTOR-Inhibitoren Veränderungen der Zellzahlen von Monozytensubpopulationen induzieren, ist unbekannt.

**Hiermit stellen wir die Hypothese auf, dass unter mTOR-Inhibitor-Einnahme die Zellzahl der der intermediären Monozyten, erhöht ist.**

## 3. Material und Methoden

### 3.1 Probanden und Studienmodell

#### 3.1.1 Auswahl der Probanden

Die HOME Alone Studie (**H**eterogeneity **o**f **M**onocytes and **E**chocardiography among **a**llograft recipients in **n**ephrology) rekrutierte von Mai 2012 bis Oktober 2013 nierentransplantierte Patienten, die sich zu einer Routinekontrolle in der Ambulanz der Klinik für Innere Medizin IV – Nieren- und Hochdruckkrankheiten – des Universitätsklinikums des Saarlandes in Homburg vorstellten. In dem genannten Zeitraum wurden insgesamt 162 Patienten in die Studie eingeschlossen.

Die Patienten wurden sowohl während eines Arztgesprächs durch den jeweils behandelnden Nephrologen bei der vorherigen Routineuntersuchung als auch telefonisch von der Verfasserin dieser Dissertationsschrift am Vortag des geplanten Studieneinschlusses über den Ablauf der Studie informiert. Nach Vorliegen einer schriftlichen Einverständniserklärung erfolgte die Untersuchung zum vereinbarten Termin. Das Untersuchungsprotokoll wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes geprüft und genehmigt.

#### 3.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Als Einschlusskriterium galt eine vor mindestens 12 Monaten stattgefundene allogene Nierentransplantation, unabhängig von der Transplantatfunktion.

Ausschlusskriterien waren

- ein zum Untersuchungszeitpunkt vorliegender klinisch apparenter fieberhafter bzw. antibiotikapflichtiger Infekt
- eine HIV-Infektion
- ein aktives Malignom / hämatologische Systemerkrankung
- Schwangerschaft
- CRP > 50 mg/l
- eine akute Nierenschädigung (Kreatininanstieg um > 50% innerhalb von 4 Wochen vor der Vorstellung)

## **3.2 Untersuchungsablauf**

### **3.2.1 Blut- und Urindiagnostik**

Nach Asservation von mindestens 15 ml Spontanurin (Mittelstrahlurin) wurden circa 10 ml in einer Urin-Monovette an das Zentrallabor des Universitätsklinikums des Saarlandes gesandt und daraus die in der Tabelle 2 zusammengestellten Urinparameter bestimmt.

Tabelle 2: Verwendetes Urinröhrchen und daraus bestimmte Urinparameter

<b>Urinröhrchen</b>	<b>Bestimmte Urinparameter</b>
<b>Urin</b> (10 ml Urin-Monovette)	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Status, Sediment</li> <li>○ Natrium, Kalium, Kalzium, Phosphat</li> <li>○ Albumin, Mikroglobulin, Eiweiß, Transferrin, Immunglobulin G</li> <li>○ Kreatinin</li> </ul>

Die Blutentnahme erfolgte am nüchternen Patienten ( $\geq 8$  h). Nach einer fünfminütigen Ruhephase im Sitzen erfolgte die Punktion einer geeigneten Armvene mit Blutentnahme von 35,5 ml Vollblut in insgesamt sieben Blutröhrchen. Davon wurden vier Blutröhrchen (zwei 2,7 ml EDTA-Monovetten, eine 4,7 ml Plasma-Monovette und eine 4,7 ml Serum-Monovette) an das Zentrallabor des Universitätsklinikums des Saarlandes weitergeleitet, um daraus die in Tabelle 3 aufgeführten Laborparameter zu bestimmen.

Weitere zwei Blutproben (eine 9 ml EDTA-Monovette und eine 9 ml Serum-Monovette) sowie fünf Urinproben in Urin-Monovetten (jeweils 1,8 ml) wurden an das Labor der Klinik für Innere Medizin IV weitergeleitet, wo eine Zentrifugation der Blutproben erfolgte. EDTA-Plasma, Serum und Urin wurden in Aliquots eingefroren und bei  $-80$  °C gelagert, um eine spätere Nachbestimmung von Blut- oder Urinparametern zu erlauben.

Eine weitere Blutprobe (eine 2,7 ml EDTA-Monovette) wurde zur Bestimmung der Monozytensubpopulationen verwendet, deren Ablauf unter 3.2.2 genauer geschildert ist. Die Monozytenmessungen wurden von einer erfahrenen MTA im immunologischen Labor der Klinik für Innere Medizin IV durchgeführt.

Tabelle 3: Verwendete Blutröhrchen und daraus bestimmte Blutparameter

<b>Blutröhrchen</b>	<b>Bestimmte Blutparameter</b>
<b>EDTA – Blut</b> (2,7 ml EDTA-Monovette)	Kleines Blutbild: - Hb, MCH - Leukozyten, Thrombozyten  Differentialblutbild: - Granulozyten (neutrophile, eosinophile, basophile) - Lymphozyten - Monozyten
<b>EDTA – Blut</b> (2,7 ml EDTA-Monovette)	Spiegel des jeweiligen Immunsuppressivums: ○ Tacrolimus ○ Sirolimus ○ Everolimus ○ Cyclosporin A
<b>Plasma</b> (4,7 ml Lithium-Heparin-Monovette)	○ Natrium, Kalium, Kalzium, Phosphat ○ Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure, Glukose, ASAT, ALAT, $\gamma$ -GT, Alkalische Phosphatase, LDH ○ Lipoproteindiagnostik (Gesamt-Cholesterin, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin, Triglyceride) ○ Eiweiß, Albumin ○ Eisen, CRP, Ferritin, Troponin T ○ Cystatin C
<b>Serum</b> (4,7 ml Serum-Monovette)	○ Apolipoprotein A, Apolipoprotein B, Insulin, Parathormon (intakt), NT-pro-BNP, 25-Hydroxy-Vitamin D3

### 3.2.2 Bestimmung von Monozytensubpopulationen

Die Differenzierung der Zellen des peripheren Blutes wird durch unterschiedliche Größe, Granularität und spezifische Oberflächenantigene ermöglicht. Die gesamte Monozytenpopulation exprimiert das Antigen CD86, welches Monozyten mit Hilfe von panmonozytären anti-CD86-Antikörpern von Lymphozyten und Granulozyten, die kein CD86 exprimieren, zu separieren erlaubt. Die Monozytenpopulation ihrerseits weist eine

unterschiedliche Expressionsstärke des Lipopolysaccharid-Rezeptors CD14 und des FcγIII-Rezeptors CD16 auf, sodass sie mit Hilfe von anti-CD14 und anti-CD16 Antikörpern in verschiedene Subpopulationen unterteilt werden können.

Die Analyse der Monozytensubpopulationen erfolgt standardmäßig mittels Durchflusszytometrie, welches ein geeignetes Verfahren zur Quantifizierung und Differenzierung unterschiedlicher Zellen darstellt. Dabei werden die einzelnen Zellen – je nach Größe, Gestalt und Anfärbung – durch charakteristische Licht- und Fluoreszenzsignale gemessen.

Hierfür werden die Zellen einzeln in eine FACS-integrierte Kapillare gesaugt. Danach passieren die Zellen einen Laserstrahl und streuen somit Licht. Dieses Streulicht stellt sich als Vorwärts- (FSC: Forward Scatter) oder Seitwärtsstreulicht (SSC: Side Scatter) dar, wobei das Vorwärtsstreulicht abhängig von der Zellgröße durch Lichtbeugung, das Seitwärtsstreulicht abhängig von Struktur und Granularität der Zelle durch Lichtbrechung entsteht. Zusätzlich können Antikörper-gekoppelte Fluorophore, welche an Antigene der Oberfläche binden, erkannt werden. Das Fluoreszenzsignal ist je nach Expressionsdichte der Antigene unterschiedlich stark ausgeprägt und zeigt je nach spezifischem Antikörper unterschiedliche Emissionsspektren. Gemeinsame Messungen von Licht- und Fluoreszenzsignal werden im Dot Plot dargestellt und ermöglichen die Differenzierung von Lymphozyten, Granulozyten und Monozyten.

Die Monozytenfärbung erfolgte nach der im immunologischen Labor der Klinik für Innere Medizin IV etablierten Standardmethode: Zunächst wurden 100 µl Vollblut aus der 2,7 ml EDTA-Monovette in ein FACS-Röhrchen pipettiert, um es danach mit 2 ml FACS-Puffer (PBS + 5 % FCS + 0,5 % BSA + 0,02 % EDTA + 0,07 % NaN<sub>3</sub>) zu waschen. Anschließend wurde die Suspension 7 Minuten bei 1300 rpm zentrifugiert, der Überstand abgesaugt und die Antikörper (Tabelle 4) hinzugegeben.

Tabelle 4: Zur Vollblutfärbung verwendete Mengen der Antikörper

Antikörper	Menge
anti-CD86-PE (BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland)	5 µl
Fanti-CD14-PerCP (BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland)	4 µl
anti-CD16-PeCy7 (Beckmann Coulter, Krefeld, Deutschland)	0,5 µl
FACS-Puffer	ad 70 µl

Danach wurde die Mischung kurz mittels Vortexer gemischt und anschließend für 30 min bei 4 °C in Dunkelheit inkubiert. Um eine Erythrozytenlyse herbeizuführen, erfolgte die Zugabe von 2 ml Lysepuffer (BD Lysing-Solution + Aqua dest. [1:10]), ein kurzes Mischen und eine anschließende Inkubation über 10 min bei Raumtemperatur im Dunkeln. Nach 7-minütiger Zentrifugation bei 1300 rpm wurde der Überstand entfernt. Nach wiederholtem Waschen mit 2 ml FACS-Puffer folgte eine Zentrifugation über 7 min bei 1300 rpm mit anschließendem Entfernen des Überstands. Durch Zugabe von 250 µl 1 %-igem Paraformaldehyd wurde die Lösung fixiert und nach Resuspendierung bis zur Messung bei 4 °C im Kühlschrank aufbewahrt.

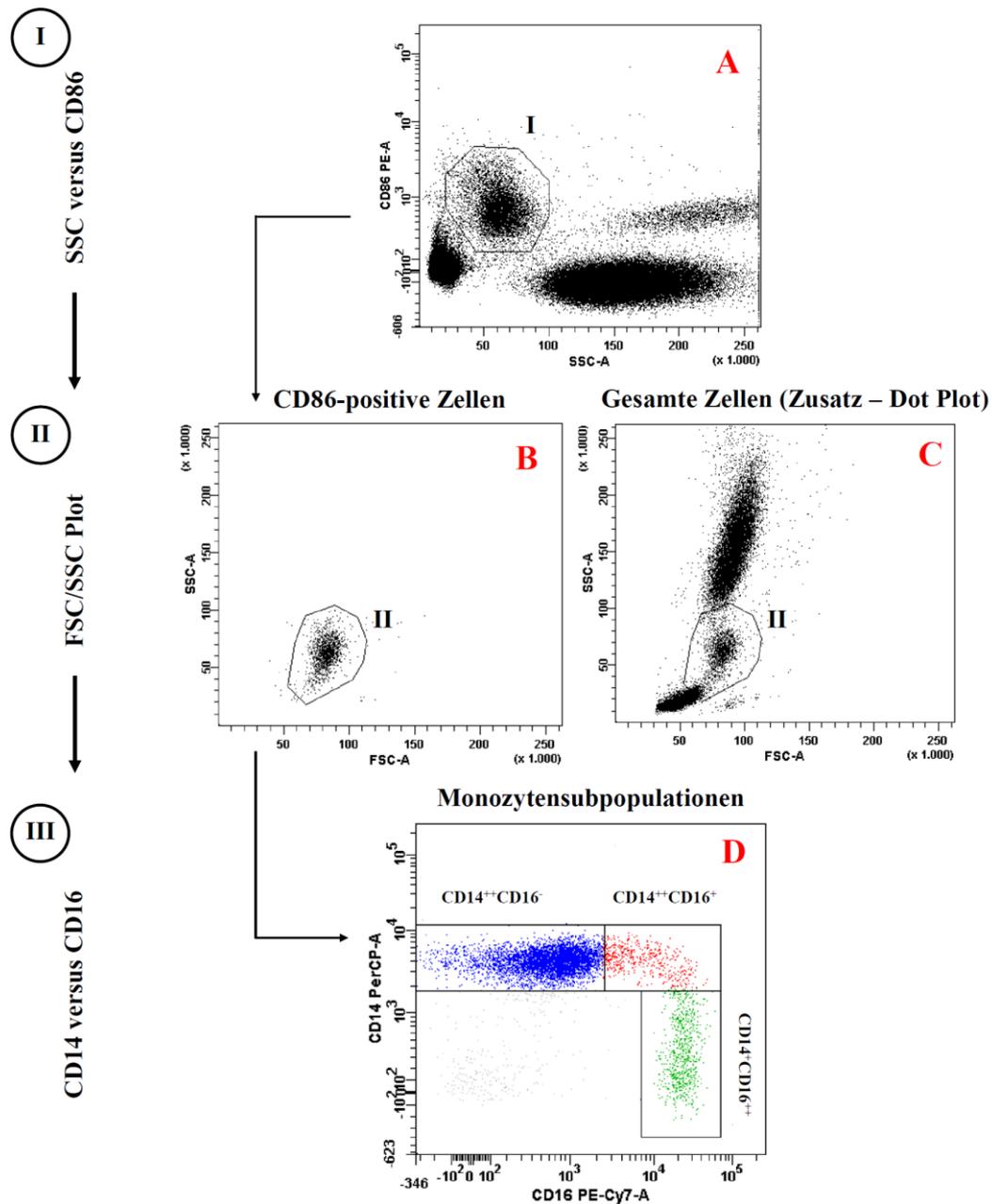
Die Messung der Monozytensubpopulationen erfolgte durchflusszytometrisch am BD FACSCanto™ II (BD Biosciences, Heidelberg, Germany). Die Auswertung erfolgte mit der BD FACSDiva™ Software (BD Biosciences).

Zur Auswertung der Monozytensubpopulationen wurde die im Labor der Klinik für Innere Medizin IV etablierte und validierte Gatingstrategie (219) eingesetzt, welche in Abbildung 1 schematisch dargestellt ist.

Hierbei erfolgte zunächst die Abgrenzung („gating“) von CD86-positiven Zellen im SSC/CD86 Dot Plot (A), welche anschließend in einem FSC/SSC Dot Plot dargestellt und abgegrenzt wurden (B, C). Letztendlich erfolgte die Differenzierung der Monozyten (D) aufgrund ihrer charakteristischen CD14- und CD16-Expression in die Monozytensubpopulationen:

- CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup> Monozyten: klassische Monozyten
- CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> Monozyten: intermediäre Monozyten
- CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup> Monozyten: nicht-klassische Monozyten

Abbildung 1: Verwendete Gatingstrategie zur Bestimmung von Monozytensubpopulationen [Modifiziert nach Zawada (220)]:



Nach Anfärben des Vollblutes mit anti-CD86-, anti-CD14- und anti-CD16-Antikörpern wurden in einem SSC/CD86 Dot Plot (A) innerhalb aller Leukozyten CD86 positive Zellen als Gate I definiert. Als nächstes wurden die Leukozyten in einem FSC/SSC Dot Plot dargestellt (B: nur Darstellung von CD86 positiven Zellen [Gate I], C: Darstellung aller Leukozyten), und Zellen mit Monozyten-charakteristischen Streulichteigenschaften als Gate II definiert. Die Schnittmenge von Gate I und Gate II bildeten die Gesamtmonozyten. Nach Darstellung

dieser in Gate I und Gate II definierten Gesamtmonozyten gemäß ihrer spezifischen CD14- und CD16-Eigenschaften (D) wurden die drei Monozytensubpopulationen differenziert: klassische CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>, intermediäre CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> und nicht-klassische CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup> Monozyten (D).

### **3.2.3 Daten- und Anamneseerhebung mittels Fragebogen**

Mittels standardisiertem WHO-Fragebogen (s. Anhang, S. 108) wurden anamnestische Daten zu Komorbidität, kardiovaskulärem Risikoprofil und Medikation erhoben (159):

Zunächst erfolgte die Erfragung von klinischen Symptomen einer koronaren Herzerkrankung und einer peripheren arteriellen Verschlusskrankung (159). Nachfolgend wurden prävalente kardiovaskuläre, onkologische und chronisch-inflammatorische Erkrankungen erfragt. Zuletzt erfolgte die Befragung des Patienten nach klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren, sportlicher Aktivität, Alkohol- und Fernsehkonsum und aktueller Medikation.

Prävalente kardiovaskuläre Ereignisse wurden definiert als Vorliegen einer koronaren Herzerkrankung, zerebrovaskulären Erkrankung und / oder einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit. Diese waren folgendermaßen definiert:

- koronare Herzkrankheit [KHK]: stattgehabter Myokardinfarkt, chirurgische und / oder interventionelle Koronarrevaskularisation
- Zerebrovaskuläre Erkrankung: stattgehabter Apoplex [definiert nach Capildeo, Haberman und Rose mit neurologischen Beschwerden > 24 h (26)]; chirurgische (Thrombarteriektomie) oder interventionelle (Stentung) Revaskularisation der Arteria carotides
- Periphere arterielle Verschlusskrankheit [pAVK]: nicht-traumatische Extremitätenamputation oberhalb des Sprunggelenks und / oder stattgehabte interventionelle (Angioplastie oder Stenteinsatz) oder chirurgische (Thrombendatherektomie / Bypass) Revaskularisation der Becken- / Beinarterien

Die klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren wurden folgendermaßen definiert:

- Positive Familienanamnese vorzeitiger kardiovaskulärer Ereignisse: akuter Myokardinfarkt und / oder Apoplex bei Verwandten ersten Grades (Eltern und Geschwister) vor dem 60. Lebensjahr

- prävalenter Diabetes mellitus: Nüchtern-Blutzucker  $\geq 126$  mg/dl, vom Patienten anamnestisch berichteter oder ärztlich vordiagnostizierter Diabetes mellitus und / oder eine antidiabetische Medikation
- Nikotinkonsum: Konsum von mindestens einer Zigarette in den vergangenen 28 Tagen vor Studieneinschluss

Alle Angaben wurden mit dem aktuellsten Arztbrief verglichen. Bei Unstimmigkeiten wurden die Patienten nochmals telefonisch kontaktiert sowie die anamnestischen Angaben mit Originalbefunden von Hausärzten, vom Universitätsklinikum des Saarlandes und / oder von anderen Krankenhäusern abgeglichen.

### **3.2.4 Erfassung anthropometrischer Daten**

#### **Körpergröße, Körpergewicht, Body-Mass-Index**

Die Messung von Körpergewicht erfolgte nicht-entkleidet auf einer geeichten digitalen Körperwaage. Die Körpergröße wurde barfuß mithilfe einer an der Wand befestigten Messlatte gemessen. Aus den Daten von Körpergewicht und –größe wurde der BMI (Body-Mass-Index) berechnet:

$$\text{BMI} = \frac{\text{Körpergewicht (kg)}}{\text{Körpergröße (m}^2\text{)}}$$

#### **Hüft- und Taillenumfang, Hüft-Taillen-Quotient**

Die Messung des Hüft- und Taillenumfangs wurde mit einem flexiblen Maßband durchgeführt. Die Messung des Hüftumfangs erfolgte auf Höhe der Trochanter majores, die des Taillenumfangs in Expiration mittig zwischen unterem Rippenbogen und Crista iliaca. Mit Hilfe dieser Werte erfolgte die Berechnung des Hüft-Taillen-Quotienten:

$$\text{Hüft-Taillen-Umfang} = \frac{\text{Hüftumfang (cm)}}{\text{Taillenumfang (cm)}}$$

### **3.2.5 Erfassung des kardiovaskulären Risikos**

#### **Blutdruckmessung**

Bei allen Patienten erfolgte eine standardisierte Blutdruckmessung mit einem automatischen Blutdruckmessgerät (Dinamap V100; Anandic medical systems AG/SA, Diessenhofen, Schweiz).

Nach einer fünfminütigen Ruheperiode wurden an beiden Armen (außer bei Patienten mit offener AV-Fistel: Messung nur an dem fistelfreien Arm) sowohl der systolische und diastolische Blutdruck als auch die Pulsfrequenz gemessen. Nach einem zweiminütigen Intervall erfolgte eine erneute Blutdruckmessung im Sitzen. Zur Erfassung einer orthostatischen Dysfunktion wurde der Patient gebeten aufzustehen und der Blutdruck wurde erneut nach einer und nach fünf Minuten gemessen.

#### **Knöchel-Arm-Index**

Nach fünfminütiger Ruhephase im Liegen erfolgte die Messung und Berechnung des ABI („ankle-brachial index“): zunächst wurde an beiden Armen mit einer handelsüblichen Blutdruckmanschette und einer Ultraschall-Stiftsonde (ELCAT Handydop, Wolfratshausen, Deutschland) der systolische Blutdruckwert beider Arteriae brachiales gemessen. Bei Vorhandensein einer funktionsfähigen AV-Fistel erfolgte die Blutdruckmessung nur am fistelfreien Arm. Im Anschluss erfolgte die Messung der Perfusionsdrücke der beiden Fußarterien (Arteriae tibiales posteriores und Arteriae dorsales pedes) zunächst am rechten, dann am linken Fuß.

Aus den oben genannten Werten erfolgte die Berechnung des Knöchel-Arm-Index (61):

$$\text{ABI} = \frac{\text{Systolischer Blutdruck Bein (mmHg)}}{\text{Systolischer Blutdruck Arm (mmHg)}}$$

Es wurde jeweils der höhere Blutdruckwert der beiden Fußarterien eines Beines sowie der höhere Wert der Arme verwendet. Als Normwert gilt ein Index zwischen 0,9 und 1,4 (2). Bei nicht komprimierbaren Arterien bis zu einem Wert von > 240 mmHg wurde die Untersuchung abgebrochen und die Arterie als „nicht komprimierbar“ bewertet.

### **3.3 Dokumentation und statistische Untersuchungen**

Die erhobenen Daten wurden mit Microsoft® Excel verwaltet (Microsoft, Seattle, Washington, USA).

Die statistischen Analysen wurden mit der Statistik-Software SPSS („Statistical Product and Service Solutions“; Version 17.0 Chicago, Illinois, USA) durchgeführt.

Kontinuierliche Variablen wurden als Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung oder bei Abweichung der Normalverteilung als Median [25. und 75. Perzentile] angegeben. Der Vergleich erfolgte bei normalverteilten Werten mittels ungepaartem T-Test, bei nicht normalverteilten Werten durch den Mann-Whitney-U-Test.

Kategoriale Variablen wurden als Absolutwerte (Prozent am Gesamtkollektiv) angegeben und mittels Chi-Quadrat-Test ( $\chi^2$ -Test) oder Fisher-Test verglichen.

Der Korrelationskoeffizient von zwei kontinuierlichen Variablen wurde mit dem Spearman-Test berechnet.

Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p \leq 0,05$  wurde als statistisch signifikant definiert.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Charakteristik der Kohorte

#### 4.1.1 Allgemein

Im Zeitraum von Mai 2012 bis Oktober 2013 wurden insgesamt 162 nierentransplantierte Patienten untersucht. Der Transplantationszeitpunkt lag bei allen Patienten mindestens 12 Monate vor der Untersuchung.

Aufgrund der Ausschlusskriterien wurden drei Patienten von der Analyse ausgeschlossen (ein Patient mit CRP-Anstieg  $> 50$  mg/l; ein Patient mit fehlenden echokardiographischen Werten; ein Patient, der nicht nüchtern zur Untersuchung erschien), so dass Daten von 159 Patienten in die Auswertung aufgenommen wurden.

Die sonographischen und anthropometrischen Messungen wurden von der Verfasserin dieser Dissertationsarbeit durchgeführt. Die Monozytenmessungen wurden von einer erfahrenen MTA im Labor der Klinik für Innere Medizin IV durchgeführt, welche gegenüber den klinischen Charakteristika der Patienten geblindet war.

#### 4.1.2 Patientencharakteristika

Das vorliegende Untersuchungskollektiv umfasst insgesamt 159 Patienten, darunter 57 Frauen (35,8 %) und 102 Männer (64,2 %), die zum Untersuchungszeitpunkt seit  $7,3 \pm 6,3$  Jahren transplantiert waren. Das Durchschnittsalter der Patienten lag bei  $56,3 \pm 12,1$  Jahren. 10,7 % der Patienten waren Raucher, 29,6 % der Patienten hatten Diabetes mellitus und bei 24,5 % der Patienten lag eine prävalente kardiovaskuläre Erkrankung (CVD) vor. Die geschätzte glomeruläre Filtrationsrate lag bei  $46,6 \pm 17,0$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, die mittleren Kreatinin-Werte bei  $1,6 \pm 0,6$  mg/dl. 76,1 % der Patienten nahmen Calcineurininhibitoren ein, 71,7 % Steroide, 67,3 % MMF / MPA, 17,0 % mTOR-Inhibitoren und 2,5 % Azathioprin. Die eingenommenen Medikamentenkombinationen aller Patienten sind im Anhang als Tabelle 17 zusammenfasst.

Patienten unter Steroideinnahme hatten im Vergleich zu denjenigen Patienten, die keine Steroide einnahmen, ein signifikant niedrigeres Gewicht und konsekutiv einen niedrigeren BMI. Im Blutbild zeigten sich unter Steroideinnahme höhere Leukozytenzahlen, laborchemisch zeigte sich höheres Plasma-Cystatin C (sowie eine Tendenz zu höherem

Kreatinin), -Gesamt-Cholesterin und -HDL-Cholesterin sowie niedrigere Werte für Plasma-Glukose, -Eiweiß und -Albumin. Patienten unter Steroidmedikation hatten häufiger mTOR-Inhibitoren und seltener CNI und MMF / MPA als Co-Immunsuppression im Vergleich zu Patienten ohne Steroidmedikation.

Patienten unter mTOR-Inhibitor-Einnahme zeigten höhere systolische Blutdruckwerte als Patienten ohne mTOR-Inhibitoren. Laborchemisch wiesen Patienten, die mTOR-Inhibitoren einnehmen, höhere Plasma-Gesamt-Cholesterinwerte (mit tendenziell höherem HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin und höheren Triglyceridwerten), höhere Retentionsparameter (Plasma-Kreatinin und Plasma-Cystatin C) mit resultierend niedriger eGFR und höherer Albuminurie mit konsekutiv vermindertem Plasma-Albumin auf als Patienten ohne mTOR-Inhibitoren. Nur 17 % der Patienten nahmen mTOR-Inhibitoren ein, zumeist in Kombination mit Steroiden, während MMF / MPA und Calcineurininhibitoren von Patienten mit mTOR-Inhibitoren seltener eingenommen werden als von Patienten ohne mTOR-Inhibitoren.

Tabelle 5 fasst weitere Charakteristika sowohl der Gesamtkohorte, als auch der nach Einnahme von Steroiden und von mTOR-Inhibitoren stratifizierten Patienten zusammen.

Tabelle 5: Patientencharakteristika der Gesamtkohorte und Vergleich von Patientengruppen mit und ohne Steroid-Einnahme, bzw. mit und ohne mTOR-Inhibitor-Einnahme

Charakteristik	Gesamt (n = 159)	Steroid-Einnahme			mTOR-Inhibitor-Einnahme		
		Ja (n = 114)	Nein (n = 45)	p	Ja (n = 27)	Nein (n = 132)	p
Alter (Jahre)	56,3 ± 12,1	56,0 ± 12,0	56,9 ± 12,5	0,667	58,0 ± 13,6	55,9 ± 11,8	0,411
Geschlecht (weiblich)	57 (35,8 %)	38 (33,3 %)	19 (42,2 %)	0,359	8 (29,6 %)	49 (37,1 %)	0,516
Zeit seit TX (Jahre)	7,3 ± 6,3	7,0 ± 6,7	8,1 ± 5,2	0,286	7,8 ± 7,4	7,2 ± 6,1	0,700
Gewicht (kg)	78,2 ± 19,0	75,9 ± 19,3	84,0 ± 17,4	<b>0,016</b>	80,0 ± 21,7	77,8 ± 18,5	0,599
Körpergröße (cm)	169 ± 10	169 ± 11	170 ± 10	0,591	169 ± 8	169 ± 11	0,838
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27,3 ± 5,7	26,6 ± 5,9	29,0 ± 4,8	<b>0,014</b>	27,8 ± 7,1	27,2 ± 5,5	0,589
WHR	0,95 ± 0,08	0,95 ± 0,07	0,96 ± 0,08	0,802	0,95 ± 0,07	0,95 ± 0,08	0,628
Raucher (ja)	17 (10,7 %)	15 (13,2 %)	2 (4,4 %)	0,155	1 (3,7 %)	16 (12,1 %)	0,309
Diabetes mellitus (ja)	47 (29,6 %)	34 (29,8 %)	13 (28,9 %)	1,000	7 (25,9 %)	40 (30,3 %)	0,818
Herzfrequenz (pro min)	68 ± 13	68 ± 14	68 ± 10	0,797	66 ± 11	68 ± 13	0,321
RR systolisch (mmHg)	145 ± 21	145 ± 21	145 ± 21	0,911	154 ± 21	143 ± 21	<b>0,020</b>
RR diastolisch (mmHg)	85 ± 11	85 ± 11	84 ± 9	0,374	88 ± 9	84 ± 11	0,109
Prävalente CVD	39 (24,5 %)	27 (23,7 %)	12 (26,7 %)	0,687	8 (29,6 %)	31 (23,5 %)	0,473
eGFR (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	46,6 ± 17,0	46,0 ± 18,0	48,0 ± 14,2	0,470	40,4 ± 16,3	47,8 ± 16,9	<b>0,039</b>
Serum Kreatinin (mg/dl)	1,6 ± 0,6	1,6 ± 0,6	1,5 ± 0,4	0,077	1,8 ± 0,6	1,5 ± 0,5	<b>0,019</b>
Cystatin C (mg/l)	2,0 ± 0,7	2,1 ± 0,7	1,8 ± 0,5	<b>0,008</b>	2,3 ± 0,7	1,9 ± 0,7	<b>0,018</b>
Albuminurie (mg/g)	48,4 (11,5; 188,8)	48,5 (10,9; 203,6)	40,7 (15,8; 137,4)	0,830	201,0 (39,4; 348,5)	36,1 (10,2; 133,1)	<b>&lt; 0,001</b>

Charakteristik	Gesamt (n = 159)	Steroid-Einnahme			mTOR-Inhibitor-Einnahme		
		Ja (n = 114)	Nein (n = 45)	p	Ja (n = 27)	Nein (n = 132)	p
Hb (g/dl)	13,1 ± 1,6	13,1 ± 1,7	13,2 ± 1,2	0,510	12,6 ± 1,1	13,2 ± 1,7	0,079
Leukozyten (Zellen/nl)	7,6 ± 2,3	8,0 ± 2,3	6,5 ± 1,7	< 0,001	7,5 ± 1,5	7,6 ± 2,4	0,810
CRP (mg/l)	2,4 (1,0; 5,8)	2,2 (0,9; 5,7)	2,7 (1,3; 7,8)	0,622	2,0 (1,2; 7,1)	2,4 (0,9; 5,8)	0,633
Harnstoff (mg/dl)	65,9 ± 33,9	67,6 ± 35,5	61,4 ± 29,3	0,302	75,4 ± 28,9	63,9 ± 34,6	0,107
Glukose (mg/dl)	105,4 ± 27,9	101,7 ± 25,1	114,8 ± 32,4	<b>0,018</b>	98,9 ± 17,6	106,7 ± 29,4	0,185
Plasma-Eiweiß (g/l)	70,8 ± 4,8	70,1 ± 5,0	72,5 ± 4,1	<b>0,004</b>	71,7 ± 5,5	70,6 ± 4,7	0,291
Plasma-Albumin (g/l)	43,6 ± 2,9	43,2 ± 2,9	44,4 ± 2,7	<b>0,018</b>	42,4 ± 3,1	43,8 ± 2,8	<b>0,022</b>
Gesamt-Cholesterin (mg/dl)	197,7 ± 37,6	201,9 ± 37,8	186,7 ± 35,1	<b>0,022</b>	217,6 ± 38,8	193,5 ± 36,1	<b>0,002</b>
HDL-Cholesterin (mg/dl)	58,1 ± 18,1	60,3 ± 17,9	52,4 ± 17,6	<b>0,014</b>	62,4 ± 19,6	57,2 ± 17,8	0,187
LDL-Cholesterin (mg/dl)	113,0 ± 31,5	114,7 ± 31,9	108,5 ± 30,4	0,275	123,8 ± 32,9	110,8 ± 30,9	0,054
Triglyceride (mg/dl)	139,0 (96,5; 197,0)	144,0 (108,0; 196,0)	132,5 (86,3; 198,5)	0,473	171,0 (117,0; 261,0)	136,5 (95,5; 193,5)	0,087
AT-1-Rezeptor-Antagonisten (ja)	55 (34,6 %)	39 (34,2 %)	16 (35,6 %)	1,000	10 (37,0 %)	45 (34,1 %)	0,826
ACE-Hemmer (ja)	49 (30,8 %)	37 (32,5 %)	12 (26,7 %)	0,569	9 (33,3 %)	40 (30,3 %)	0,820
Statine (ja)	114 (71,7 %)	84 (73,7 %)	30 (66,7 %)	0,435	18 (66,7 %)	96 (72,7 %)	0,639
Natives Vitamin D (ja)	123 (77,4 %)	87 (76,3 %)	36 (80,0 %)	0,679	18 (66,7 %)	105 (79,5%)	0,205
Aktives Vitamin D (ja)	63 (39,6 %)	49 (43,0 %)	14 (31,1 %)	0,209	10 (37,0 %)	53 (40,2 %)	0,831

Charakteristik	Gesamt	Steroid-Einnahme			mTOR-Inhibitor-Einnahme		
		Ja (n = 114)	Nein (n = 45)	p	Ja (n = 27)	Nein (n = 132)	p
<b>Azathioprin (ja)</b>	4 (2,5 %)	2 (1,8 %)	2 (4,4 %)	0,318	0	4 (3,0 %)	1,000
<b>Steroide (ja)</b>	114 (71,7 %)	114 (100 %)	0		24 (88,9 %)	90 (68,2 %)	<b>0,034</b>
<b>mTOR-Inhibitoren (ja)</b>	27 (17,0 %)	24 (21,1 %)	3 (6,7 %)	<b>0,034</b>	27 (100 %)	0	
<b>Calcineurininhibitoren (ja)</b>	121 (76,1 %)	79 (69,3 %)	42 (93,3 %)	<b>0,001</b>	1 (3,7 %)	120 (90,9%)	<b>&lt; 0,001</b>
<b>MMF / MPA (ja)</b>	107 (67,3 %)	68 (59,6 %)	39 (86,7 %)	<b>0,001</b>	11 (40,7 %)	96 (72,7 %)	<b>0,003</b>

*TX: Transplantation; BMI: Body-Mass-Index; WHR: waist-to-hip ratio; RR systolisch / diastolisch: systolischer / diastolischer Blutdruckwert; CVD: Kardiovaskuläre Erkrankungen („cardiovascular disease“); eGFR: geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate; Hb: Hämoglobin; CRP: C-reaktives Protein; HDL: high-density Lipoprotein; LDL: low-density Lipoprotein; MMF / MPA: Mykophenolat-Mofetil / Mykophenolsäure*

*Aufgeführt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung, Median (Interquartilsabstand) oder Anzahl (Prozent).*

## 4.2 Zusammenhang von Monozyten und kardiovaskulären Risikofaktoren / prävalenten kardiovaskulären Ereignissen

Wir untersuchten zunächst, in welchem Maße die Zellzahl der Gesamtmonozyten und der einzelnen Monozytensubpopulationen mit traditionellen und nicht-traditionellen kardiovaskulären Risikofaktoren sowie mit Nierenfunktionsparametern korrelieren.

Wie in Tabelle 6 dargestellt, besteht bei der Gesamtkohorte eine positive Korrelation zwischen der Zellzahl der nicht-klassischen Monozyten und dem BMI, während die Zellzahl von Gesamtmonozyten, von klassischen und von intermediären Monozyten mit Cystatin C (nicht jedoch mit der glomerulären Filtrationsrate) korreliert. Die Auswertungen wurden auch getrennt für Patienten mit und ohne Steroideinnahme durchgeführt und sind gesondert im Anhang als Tabellen 20 und 21 aufgelistet.

Tabelle 6: Korrelation von Zellzahlen der Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen mit traditionellen und nicht-traditionellen Risikofaktoren sowie mit Nierenfunktionsparametern bei der Gesamtkohorte

	Gesamte Monozyten		Klassische Monozyten		Intermediäre Monozyten		Nicht-klassische Monozyten	
	r	p	r	p	r	p	r	p
<b>BMI</b>	-0,125	0,124	-0,149	0,065	-0,106	0,189	0,218	<b>0,007</b>
<b>RR systolisch</b>	0,058	0,476	0,069	0,396	-0,057	0,485	-0,009	0,910
<b>RR diastolisch</b>	0,001	0,986	0,024	0,764	-0,121	0,136	-0,112	0,168
<b>eGFR</b>	-0,062	0,447	-0,066	0,415	-0,147	0,069	0,024	0,769
<b>CRP</b>	0,119	0,142	0,103	0,204	-0,145	0,073	0,097	0,233
<b>Cholesterin</b>	0,064	0,434	0,096	0,240	-0,062	0,449	-0,072	0,376
<b>Triglyceride</b>	0,026	0,753	0,037	0,649	-0,068	0,404	-0,036	0,660
<b>LDL-Cholesterin</b>	0,004	0,961	0,019	0,822	-0,071	0,390	0,073	0,373
<b>HDL-Cholesterin</b>	0,107	0,192	0,124	0,130	0,099	0,230	-0,106	0,198
<b>Albuminurie</b>	0,007	0,933	0,002	0,980	0,015	0,853	-0,040	0,626
<b>pro-BNP</b>	0,139	0,091	0,142	0,085	0,127	0,125	-0,039	0,639
<b>Cystatin C</b>	0,173	<b>0,036</b>	0,164	<b>0,047</b>	0,209	<b>0,011</b>	0,072	0,385

*BMI: Body-Mass-Index; eGFR: geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate; CRP: C-reaktives Protein; LDL: low-density Lipoprotein; HDL: high-density Lipoprotein; pro-BNP: pro-brain-natriuretic-peptide*

*Aufgeführt sind Korrelationskoeffizienten (r) und Signifikanz (p). Diese Daten beziehen sich wegen fehlenden Differentialblutbilds bei fünf Patienten auf 154 Patienten.*

Desweiteren überprüften wir, ob ein Zusammenhang zwischen den Zellzahlen der Gesamtmonozyten und der Monozytensubpopulationen mit den klassischen Risikofaktoren Rauchen und Diabetes mellitus sowie mit prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen vorliegt.

Wie in Tabelle 7 dargestellt, haben Raucher weniger nicht-klassische Monozyten als Nichtraucher, wogegen sich die Zellzahlen der Gesamtmonozyten, der klassischen und der intermediären Monozyten nicht unterscheiden. Weder bei Vergleich von Diabetikern und Nicht-Diabetikern, noch bei Vergleich von Patienten mit und ohne prävalente kardiovaskuläre Ereignisse zeigen sich Unterschiede in den Zellzahlen der Gesamtmonozyten und der Monozytensubpopulationen. Tabelle 7 bezieht sich auf die Daten der Gesamtkohorte, Auswertungen mit oder ohne Steroideinnahme sind gesondert als Tabellen 22 und 23 im Anhang aufgelistet.

Tabelle 7: Zellzahlen der Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen in Abhängigkeit von Raucherstatus, prävalentem Diabetes mellitus und prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen bei der Gesamtkohorte

		<b>Gesamte Monozyten</b> [Zellen / µl]	<b>Klassische Monozyten</b> [Zellen / µl]	<b>Intermediäre Monozyten</b> [Zellen / µl]	<b>Nicht-klassische Monozyten</b> [Zellen / µl]
<b>Rauchen</b>	Ja (n = 16)	690 ± 169	618 ± 159	25 ± 11	47 ± 35
	Nein (n = 138)	686 ± 244	585 ± 217	36 ± 21	65 ± 33
	p	0,942	0,557	0,065	<b>0,039</b>
<b>Diabetes mellitus</b>	Ja (n = 47)	716 ± 255	613 ± 217	36 ± 25	67 ± 39
	Nein (n = 107)	673 ± 229	578 ± 209	34 ± 19	62 ± 31
	p	0,299	0,335	0,564	0,411
<b>Prävalente CVD</b>	Ja (n = 38)	688 ± 219	585 ± 185	35 ± 22	68 ± 41
	Nein (n = 116)	686 ± 244	590 ± 220	34 ± 21	62 ± 30
	p	0,963	0,897	0,742	0,344

*CVD: kardiovaskuläre Erkrankungen („cardiovascular disease“)*

*Aufgeführt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung. Diese Daten beziehen sich wegen fehlendem Differentialblutbild bei fünf Patienten auf 154 Patienten.*

### **4.3 Monozyten und immunsuppressive Medikamente**

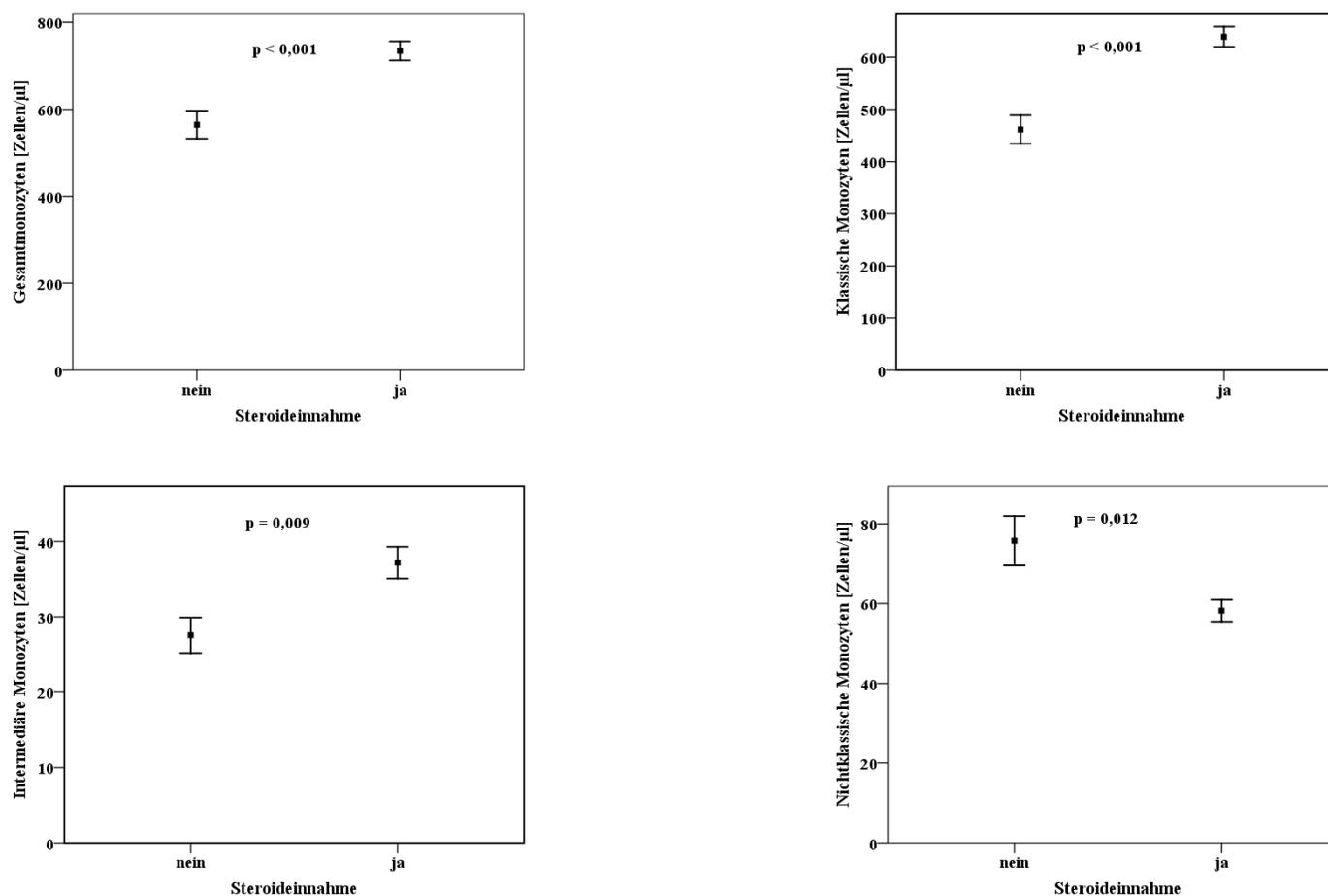
#### **4.3.1 Monozyten unter Steroiden bzw. mTOR-Inhibitoren**

Zur Überprüfung der eigentlichen Studienhypothese untersuchten wir nachfolgend, ob die Einnahme einzelner immunsuppressiver Medikamente mit Veränderungen der Zellzahlen assoziiert ist.

Unter Steroideinnahme (Abbildung 2) zeigen sich deutlich höhere Zellzahlen von Gesamtmonozyten, klassischen und intermediären Monozyten, wogegen die Zellzahlen nicht-klassischer Monozyten unter Steroideinnahme signifikant niedriger sind. Ein repräsentatives Beispiel einer Verteilung der Monozytensubpopulationen bei jeweils einem Patienten mit und ohne Steroideinnahme ist in Abbildung 4 dargestellt, wobei dort deutlich zu erkennen ist, dass der Patient unter Steroideinnahme insgesamt mehr Monozyten, mehr klassische und intermediäre Monozyten, aber weniger nicht-klassische Monozyten als ein Patient ohne Steroideinnahme aufweist.

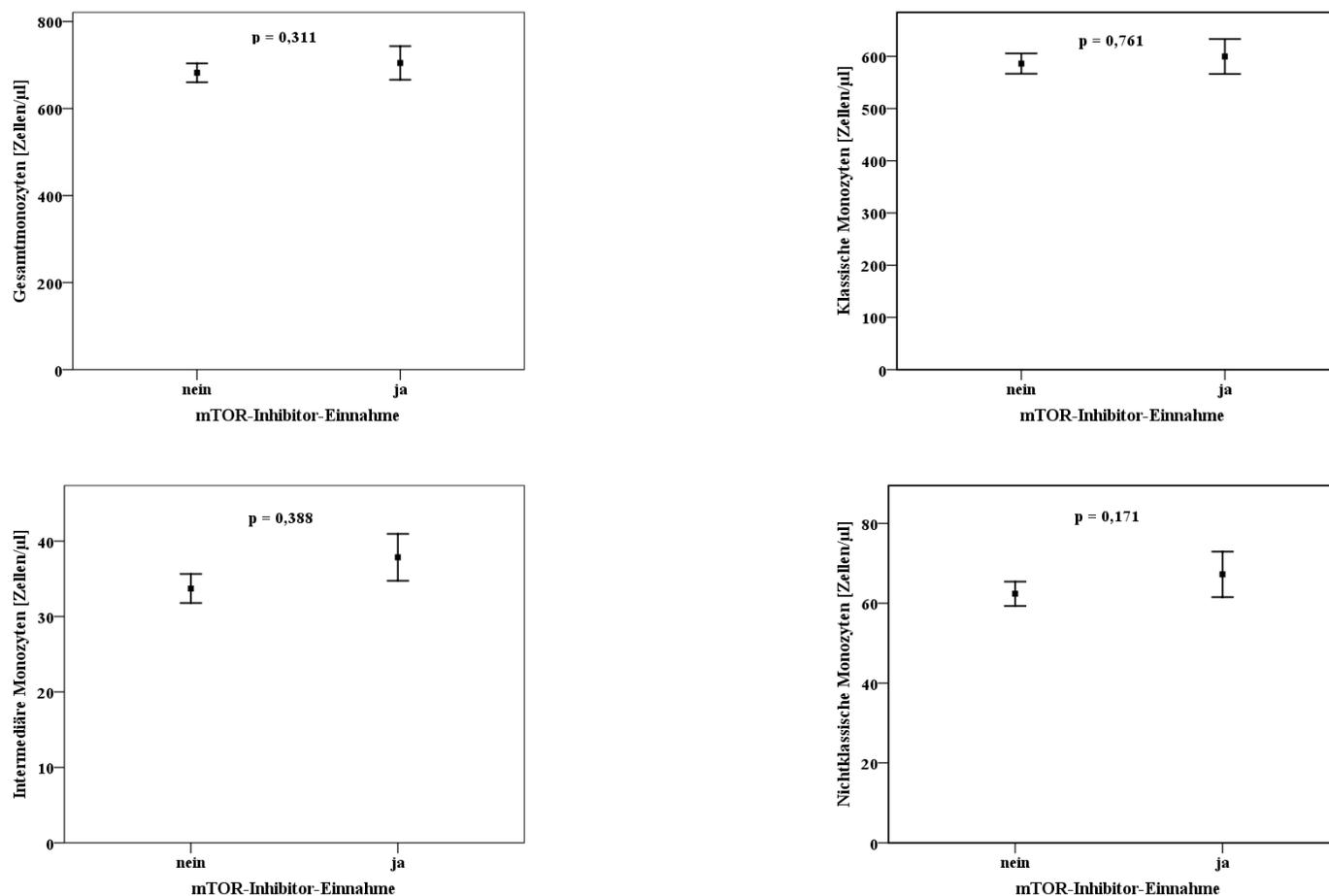
Unter Einnahme von mTOR-Inhibitoren (Abbildung 3) unterscheiden sich weder die Gesamtzahlen der Monozyten noch die Zellzahlen der verschiedenen Monozytensubpopulationen.

Abbildung 2: Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen bei Patienten mit und ohne Steroideinnahme



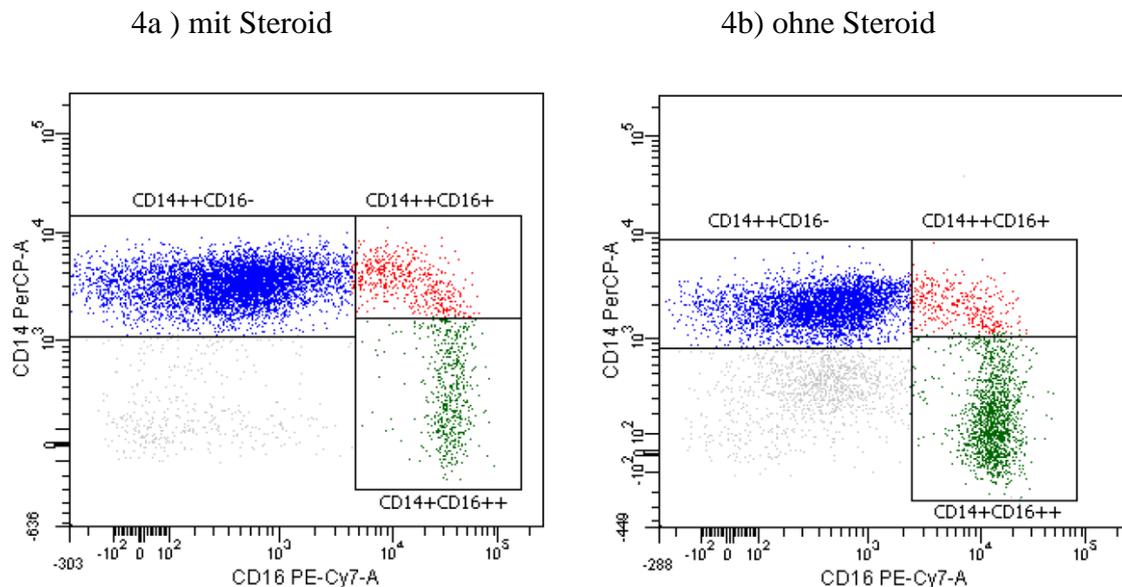
Zellzahlen der Gesamtmonozyten und der Monozytensubpopulationen bei Patienten mit Steroideinnahme und Patienten ohne Steroideinnahme (dargestellt sind Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung). Diese Daten beziehen sich wegen fehlendem Differentialblutbild bei fünf Patienten auf 154 Patienten.

Abbildung 3: Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen bei Patienten mit und ohne mTOR-Inhibitor-Einnahme



Zellzahlen der Gesamtmonozyten und der Monozytensubpopulationen bei Patienten mit Einnahme von mTOR-Inhibitoren und Patienten ohne Einnahme von mTOR-Inhibitoren (dargestellt sind Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung). Diese Daten beziehen sich wegen fehlendem Differentialblutbild bei fünf Patienten auf 154 Patienten.

Abbildung 4: Repräsentatives Beispiel der Verteilung der Monozytensubpopulationen bei jeweils einem Patienten mit (Abb. 4a) und ohne (Abb. 4b) Steroideinnahme



Desweiteren verglichen wir jeweils zwei Gruppen miteinander:

- 1) Nierentransplantierte Patienten der HOME Alone Studie mit Steroideinnahme vs. gesunde Probanden der I Like HOME Studie (gesunde Personen der Allgemeinbevölkerung).
- 2) Nierentransplantierte Patienten der HOME Alone Studie ohne Steroideinnahme vs. gesunde Probanden der I Like HOME Studie (gesunde Personen der Allgemeinbevölkerung).

Dafür wurden passende Matchpartner hinsichtlich des Alters, Geschlechts und Nikotinstatus ausgewählt, um ihre Patientencharakteristika sowie Zellzahlen von Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen innerhalb der Gruppen zu vergleichen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 zusammengefasst.

Transplantierte Patienten unter Steroideinnahme weisen signifikant niedrigere Werte sowohl für Körpergröße als auch für Körpergewicht auf, sodass der aus diesen beiden Variablen errechnete BMI ähnlich wie bei gesunden Probanden ist. Patienten unter Steroideinnahme weisen außerdem signifikant niedrigere diastolische Blutdruckwerte, schlechtere Nierenfunktionsparameter (niedrigere eGFR, höheres Kreatinin, höhere Albuminurie), höhere Entzündungsparameter (höheres CRP und höhere Leukozyten-Zellzahlen) sowie veränderte Lipidparameter (niedrigeres LDL-Cholesterin und höhere Triglyceridspiegel) als gesunde Probanden auf. Die Zellzahlen der Gesamtmonozyten, klassischer und intermediärer

Monozyten sind bei transplantierten Patienten unter Steroideinnahme höher als bei gesunden Probanden, wogegen sich die Zellzahlen der nicht-klassischen Monozyten zwischen den beiden Gruppen nicht unterscheiden.

Nierentransplantierte ohne Steroideinnahme weisen im Vergleich zu gesunden Probanden der I Like HOME Studie ebenfalls niedrigere diastolische Blutdruckwerte, schlechtere Nierenfunktionsparameter (niedrigere eGFR und höheres Kreatinin), signifikant unterschiedliche Lipidspiegel (niedrigeres Gesamt-, HDL- und LDL-Cholesterin, höhere Triglyceride), und erhöhte Entzündungswerte (höheres CRP und höhere Zellzahlen von Leukozyten) auf. Hinsichtlich der Monozytenzellzahlen kann man bis auf tendenziell höhere nicht-klassische Monozyten keine signifikanten Unterschiede zwischen den nierentransplantierten Patienten ohne Steroideinnahme und gesunden Probanden erkennen.

Tabelle 8: Patientencharakteristika und Vergleich von Monozyten-Zellzahlen bei gesunden Probanden (I Like Home) und nierentransplantierten Patienten mit (HOME Alone, Steroid: Ja) bzw. ohne (HOME Alone, Steroid: Nein) Steroideinnahme

	Nierentransplantierte unter Steroideinnahme vs. Gesunde Probanden (n = 69)			Nierentransplantierte ohne Steroideinnahme vs. Gesunde Probanden (n = 28)		
	HOMe Alone (Steroid: Ja)	I Like Home	p	HOMe Alone (Steroid: Nein)	I Like Home	p
<b>Alter (Jahre)</b>	49,0 ± 9,3	48,9 ± 8,8	0,475	49,9 ± 10,0	49,8 ± 8,9	0,951
<b>Geschlecht (weiblich)</b>	22 / 69 (31,9 %)	22 / 69 (31,9 %)	-	14 / 28 (50 %)	14 / 28 (50 %)	-
<b>Körpergröße (cm)</b>	170 ± 12	174 ± 10	<b>0,007</b>	170 ± 11	171 ± 8	0,452
<b>Körpergewicht (kg)</b>	77,3 ± 20,2	83,4 ± 15,6	<b>0,027</b>	85,2 ± 20,0	82,7 ± 14,8	0,504
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	26,5 ± 6,3	27,3 ± 4,2	0,329	29,3 ± 5,6	28,2 ± 5,2	0,403
<b>Diabetes mellitus (ja)</b>	16 / 69 (23,2 %)	2 / 69 (2,9 %)	0,413	6 / 28 (21,4 %)	3 / 28 (10,7 %)	0,530
<b>Nikotin (ja)</b>	12 / 69	12 / 69	-	2 / 28	2 / 28	-
<b>RR systolisch (mmHg)</b>	143 ± 21	143 ± 20	0,869	143 ± 19	148 ± 23	0,296

	Nierentransplantierte unter Steroideinnahme vs. Gesunde Probanden (n = 69)			Nierentransplantierte ohne Steroideinnahme vs. Gesunde Probanden (n = 28)		
	HOMe Alone (Steroid: Ja)	I Like Home	p	HOMe Alone (Steroid: Nein)	I Like Home	p
RR diastolisch (mmHg)	86 ± 9	93 ± 14	< 0,001	85 ± 8	92 ± 11	<b>0,022</b>
Herzfrequenz (pro min)	70 ± 14	70 ± 11	0,833	70 ± 10	68 ± 9	0,450
GFR (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	47,9 ± 19,6	83,1 ± 12,7	< 0,001	52,9 ± 13,2	83,1 ± 12,2	< 0,001
Serum-Kreatinin (mg/dl)	1,67 ± 0,67	0,91 ± 0,16	< 0,001	1,33 ± 0,37	0,86 ± 0,13	< 0,001
Albuminurie (mg/g)	34,2 (10,1; 153,0)	3,7 (2,5; 5,6)	< 0,001	40,7 (18,7 ; 101,4)	3,6 (2,1; 7,5)	0,114
Gesamtcholesterin (mg/dl)	203,0 ± 38,0	213,5 ± 37,8	0,104	187,9 ± 33,8	227,0 ± 38,5	<b>0,001</b>
HDL-Cholesterin (mg/dl)	58,3 ± 16,9	57,4 ± 16,2	0,753	51,6 ± 17,7	60,5 ± 12,6	<b>0,002</b>
LDL-Cholesterin (mg/dl)	117,2 ± 34,0	136,0 ± 30,4	<b>0,001</b>	108,4 ± 28,7	146,4 ± 36,6	<b>0,001</b>
Triglyceride (mg/dl)	146,0	110,0	<b>0,004</b>	146,5	126,0	<b>0,027</b>
CRP (mg/l)	2,1 (0,8; 5,6)	1,1 (0,7; 2,6)	<b>0,005</b>	2,2 (0,9; 3,6)	0,8 (0,4; 2,2)	<b>0,035</b>

	Nierentransplantierte unter Steroideinnahme vs. Gesunde Probanden (n = 69)			Nierentransplantierte ohne Steroideinnahme vs. Gesunde Probanden (n = 28)		
	HOMe Alone (Steroid: Ja)	I Like Home	p	HOMe Alone (Steroid: Nein)	I Like Home	p
<b>Leukozyten (Zellen/nl)</b>	8,2 ± 2,4	6,3 ± 2,0	<b>&lt; 0,001</b>	6,7 ± 1,8	5,7 ± 1,5	<b>0,043</b>
<b>Gesamtmonozyten (Zellen/μl)</b>	732 ± 232	505 ± 183	<b>&lt; 0,001</b>	532 ± 205	461 ± 141	0,160
<b>Klassische Monozyten (Zellen/μl)</b>	640 ± 206	425 ± 165	<b>&lt; 0,001</b>	441 ± 182	382 ± 128	0,174
<b>Intermediäre Monozyten (Zellen/μl)</b>	35 ± 20	27 ± 15	<b>0,010</b>	23 ± 10	26 ± 14	0,438
<b>Nichtklassische Monozyten (Zellen/μl)</b>	57 ± 27	53 ± 24	0,368	68 ± 36	53 ± 27	0,077

BMI: Body-Mass-Index; RR systolisch / diastolisch: systolischer / diastolischer Blutdruckwert; eGFR: geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate; HDL: high-density Lipoprotein; LDL: low-density Lipoprotein; CRP: C-reaktives Protein.

Aufgeführt sind Mittelwerte ± Standardabweichung, Median (Interquartilsabstand) oder Anzahl (Prozent).

**4.3.2 Monozyten unter MMF / MPA bzw. CNI**

Untersucht wurde ebenfalls der Einfluss weiterer immunsuppressiver Medikamente - MMF / MPA und Calcineurininhibitoren (CNI; beinhalten Cyclosporin A und Tacrolimus) - auf die Monozytensubpopulationen. Auf die Auswertung mit Azathioprin wurde wegen ungenügender Patientenzahl verzichtet (4 Patienten; 2,5 % der Gesamtkohorte). Wie in Tabelle 9 dargestellt, unterscheiden sich zusammenfassend die Zellzahlen von Gesamtmonozyten und von Subpopulationen der Monozyten weder zwischen Patienten mit und ohne Einnahme von MMF / MPA, noch zwischen Patienten mit und ohne CNI Einnahme.

Tabelle 9: Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen unter MMF / MPA respektive CNI

		<b>Gesamte Monozyten</b> [Zellen / $\mu$ l]	<b>Klassische Monozyten</b> [Zellen / $\mu$ l]	<b>Intermediäre Monozyten</b> [Zellen / $\mu$ l]	<b>Nicht-klassische Monozyten</b> [Zellen / $\mu$ l]
<b>MMF / MPA</b>	Ja (n = 105)	675 $\pm$ 242	574 $\pm$ 211	35 $\pm$ 23	66 $\pm$ 36
	Nein (n = 49)	709 $\pm$ 229	620 $\pm$ 212	33 $\pm$ 16	56 $\pm$ 26
	p	0,408	0,208	0,546	0,082
<b>CNI</b>	Ja (n = 117)	677 $\pm$ 245	581 $\pm$ 219	33 $\pm$ 21	63 $\pm$ 35
	Nein (n = 37)	714 $\pm$ 210	612 $\pm$ 185	38 $\pm$ 19	64 $\pm$ 30
	p	0,413	0,431	0,232	0,930

*MMF / MPA: Mykophenolat-Mofetil / Mykophenolsäure; CNI: Calcineurininhibitoren*

*Aufgeführt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung. Diese Daten beziehen sich wegen fehlendem Differentialblutbild bei fünf Patienten auf 154 Patienten.*

## 5. Diskussion

### 5.1 Erhöhte Mortalität aufgrund kardiovaskulärer Erkrankungen bei nierentransplantierten Patienten

Die allogene Nierentransplantation gilt als Therapie der Wahl für terminal niereninsuffiziente Patienten (4). Sie bietet den Patienten nicht nur eine höhere Lebensqualität aufgrund besserer medizinischer, psychischer und sozialer Rehabilitation (165, 131, 44, 38), sondern erbringt gegenüber der Dialysetherapie für terminal nierenkranke Patienten auch einen signifikanten Überlebensvorteil (179, 137, 41, 132, 214). Exemplarisch zeigten Wolfe et al., dass die jährliche Todesrate von US-amerikanischen Dialysepatienten, die sich auf der Warteliste für eine Transplantation befinden, nahezu doppelt so hoch ist wie die Mortalität von Transplantatempfängern (214).

Dennoch ist gegenüber gleichaltrigen Personen der Allgemeinbevölkerung die Lebenserwartung nierentransplantierten Patienten signifikant erniedrigt, was sich in einer niederländischen epidemiologischen Studie in einer 15-fach erhöhten Gesamtmortalität nierentransplantierten Patienten im ersten Jahr und einer 4-fach erhöhten Gesamtmortalität in den darauf folgenden Jahren im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung widerspiegelte (10).

Diese deutlich erhöhte Mortalität nach allogener Nierentransplantation beruhte in den frühen Jahren der Transplantationsmedizin vor allem auf Infektionserkrankungen (136), wogegen heute kardiovaskuläre Ereignisse die häufigste Todesursache des Empfängers darstellen (45, 170, 1, 136, 55, 145, 75). Exemplarisch zeigten Aakhus et al., dass im Gegensatz zu gleichaltrigen Personen der Allgemeinbevölkerung nierentransplantierte Patienten zwischen 70 und 79 Jahren ein 4-fach erhöhtes Risiko haben, aufgrund kardiovaskulärer Erkrankungen zu versterben; Patienten zwischen 40 und 49 Jahren weisen gegenüber der Allgemeinbevölkerung sogar ein 46-fach höheres Risiko auf (1).

Die hohe kardiovaskuläre Komorbidität resultiert einerseits aus vorbestehenden atherosklerotischen Gefäßveränderungen, die sich bereits vor allogener Nierentransplantation aufgrund der langjährigen chronischen Nierenerkrankung entwickelten (140) und andererseits aus einer Progredienz dieser vorbestehenden Gefäßveränderungen sowie dem Neuauftreten atherosklerotischer Läsionen nach allogener Nierentransplantation, die insbesondere auf das

persistierende Einwirken kardiovaskulärer Risikofaktoren unter Einnahme einer immunsuppressiven Therapie zurückgeführt wird (122).

Die hohe kardiovaskuläre Komorbidität von Dialysepatienten vor Nierentransplantation reflektiert sich klinisch in gesteigerten Inzidenzen von koronarer Herzkrankheit, Myokardinfarkt, chronischer Myokardinsuffizienz, zerebrovaskulären Erkrankungen, Vorhofflimmern, pAVK und malignen Herzrhythmusstörungen (71). Diese resultieren pathophysiologisch vor allem aus einer beschleunigten Entstehung atherosklerotischer Gefäßläsionen sowohl aufgrund der hohen Prävalenz klassischer kardiovaskulärer Risikofaktoren wie Hypertonie, Diabetes mellitus oder Dyslipidämie bei chronisch nierenkranken Menschen als auch aufgrund dem Einwirken CKD-spezifischer Risikofaktoren wie Volumenüberladung, chronischer Inflammation oder Störungen des Kalzium-Phosphat-Haushalts (36). Diese akzelerierte Atherosklerose mündet in einer gegenüber der Allgemeinbevölkerung mehr als zehnfach höheren kardiovaskulären Mortalität von Dialysepatienten (36).

Nach Transplantation persistieren die klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren zumindest partiell und es treten ähnlich wie bereits während der Dialysepflichtigkeit nicht-klassische, teilweise transplantationsassoziierte Risikofaktoren hinzu (182), innerhalb derer die chronische Inflammation eine zentrale Bedeutung besitzt (146).

In der internistischen Betreuung der betroffenen Patienten erscheint es relevant, dass immunsuppressive Medikamente selbst zum kardiovaskulären Risiko beitragen können (17), indem sie einerseits klassische kardiovaskuläre Risikofaktoren – insbesondere arterielle Hypertonie, Hyperglykämie und Dyslipidämie – induzieren (122), andererseits aber auch nicht-klassische Risikofaktoren – insbesondere die chronische Inflammation – modifizieren (181).

Die Auswahl der immunsuppressiven Medikamente für die Therapie nach Transplantation sollte daher sorgfältig je nach individuellem Risiko für Rejektionen, Infektionen und kardiovaskuläre Ereignisse getroffen werden.

## **5.2 Immunsuppressive Therapie nierentransplantierte Patienten**

### **5.2.1 Grundprinzipien der immunsuppressiven Therapie nach Transplantation**

Das Ziel der immunsuppressiven Therapie nach Organtransplantation ist die Verhinderung einer Abstoßungsreaktion, ohne gleichzeitig intolerable unerwünschte substanzspezifische oder -unspezifische Nebenwirkungen zu induzieren (15, 190). Somit besteht die ideale immunsuppressive Therapie eines transplantierten Patienten in einem individuellen Mittelmaß zwischen einer zwar nebenwirkungsarmen, aber immunologisch zu insuffizienten, und einer zu nebenwirkungsreichen, jedoch dann immunologisch potenten Immunsuppression (190, 50). Unspezifische Nebenwirkungen, welche von allen Immunsuppressiva verursacht werden, bestehen in einem erhöhten Risiko für Infektionen durch Bakterien, Pilze, Mykobakterien oder Viren (190, 65, 91) [vor allem Cytomegalievirus (20) oder Polyomavirus (74, 65)] und für Malignome (190, 65, 91), insbesondere für Hauttumore (113) und transplantationsassoziierten lymphoproliferativen Erkrankungen (PTLD; „Post-Transplantation Lymphoproliferative Disease“) (5, 65). Neben diesen unspezifischen Nebenwirkungen können alle eingesetzten Pharmaka substanzspezifische Nebenwirkungen induzieren, welche im Folgenden dargestellt werden.

### **5.2.2 Wichtigste Vertreter der Immunsuppressiva nach Nierentransplantation**

Die wichtigsten Vertreter der immunsuppressiven Medikamente, ihre Wirkmechanismen und Nebenwirkungsspektren sind in Tabelle 10 zusammengestellt. Darin ist erkennbar, dass das verfügbare Repertoire der Immunsuppressiva in der Transplantationsmedizin über längere Zeit zunächst konstant war, vor allem in den letzten zwei Dekaden aber viele neue Immunsuppressiva entwickelt und für den Einsatz nach Transplantation zugelassen wurden. Ebenso wird deutlich, dass mehrere Medikamentengruppen, die jeweils auf einem anderen intrazellulären Wirkmechanismus basieren, zur Verfügung stehen.

Das Standardregime nach Transplantation besteht aus einer Kombination verschiedener Substanzklassen. Durch eine Kombination von Medikamenten unterschiedlicher Wirkmechanismen werden mehrere Reaktionswege inhibiert, sodass die Dosierungen der Einzelsubstanzen erniedrigt und dadurch Nebenwirkungen minimiert werden können (15).

Tabelle 10: Wirkmechanismus und unerwünschte Nebenwirkungen der wichtigsten Vertreter immunsuppressiver Medikamente nach Nierentransplantation (15, 65, 190, 91, 102, 201)

Medikamentengruppen	Wirkmechanismus	Unerwünschte Nebenwirkungen
<b>Glukokortikosteroide (1961):</b> Prednisolon Methylprednisolon	Breite anti-inflammatorische Wirkung, u. a. Hemmung der Antigenpräsentation, Zytokinfreisetzung und Proliferation von Lymphozyten	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hyperglykämie, Hyperlipidämie, Appetitzunahme</li> <li>- Stämmadipositas, Vollmondgesicht, Striae</li> <li>- Flüssigkeitsretention, Hypokaliämie, Hypertonie</li> <li>- Nebennierenrindensuppression / -atrophie</li> <li>- Psychosen, Katarakt, Glaukomanfall, Osteoporose, Femurkopfnekrose, Wundheilungsstörung</li> </ul>
<b>mTOR-Inhibitoren:</b> Sirolimus (1999) Everolimus (2003)	Bindung an FKBP12 mit konsekutiver mTOR-Inhibition und Blockade der IL-2-abhängigen T-Zell-Proliferation	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nephrotoxizität (geringer als bei CNI), Proteinurie</li> <li>- Leukopenie, Thrombopenie, Anämie</li> <li>- Verzögerte Wundheilung, Lymphozelen</li> <li>- Hyperlipidämie, Hyperglykämie</li> <li>- Stomatitis, Pneumonitis</li> </ul>
<b>DNA-Synthese-Hemmer</b> (Antimetabolite): Azathioprin (1959) Mykophenolat-Mofetil (MMF; 1997) Mykophenolsäure (MPA; 2004)	<u>Proliferationshemmung von B- und T-Lymphozyten:</u> <u>MMF / MPA:</u> Blockade der Inosinmonophosphat- Dehydrogenase → Hemmung der Purinsynthese <u>AZA:</u> a) Hemmung der DNA-Replikation b) Hemmung der <i>de novo</i> Purinsynthese c) Interferenz mit CD28-Kostimulation von T-Zellen	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Knochenmarksuppression: Leukopenie, Anämie</li> <li>- <u>MMF / MPA:</u> Gastrointestinale Nebenwirkungen: Diarrhö, Übelkeit, Bauchschmerzen</li> <li>- <u>AZA:</u> Lebertoxizität</li> </ul>

Medikamentengruppen	Wirkmechanismus	Unerwünschte Nebenwirkungen
<b>Calcineurininhibitoren:</b> Ciclosporin A (1983) Tacrolimus (1993)	Bindung von <u>Tacrolimus</u> an FKBP12 und von <u>Ciclosporin A</u> an Cyclophilin → Inhibition der Calcineurinphosphatase → Hemmung der T-Zell-Aktivierung	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nephrotoxizität</li> <li>- Hämolytisch-urämisches Syndrom</li> <li>- Hypertonie, Hyperlipidämie</li> <li>- Hypomagnesiämie, Hyperkaliämie</li> <li>- <u>Tacrolimus</u>: Alopezie, Tremor, Glukoseintoleranz, Posttransplantationsdiabetes</li> <li>- <u>Ciclosporin A</u>: Gingivahyperplasie, Hypertrichose</li> </ul>
<b>selektiver T-Zell-Kostimulationsblocker:</b> Belatacept (2011)	Selektive Blockade der T-Zell-Kostimulation durch Inhibition von CD80 / CD86 auf antigen-präsentierenden Zellen → T-Zell-Aktivierung ↓, T-Zell-Anergie / T-Zell Apoptose ↑	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Erhöhtes Risiko für Posttransplantationslymphom bei Epstein-Barr-Virus-seronegativen Empfängern;</li> <li>- Tuberkulose (bei hoher Tuberkuloseprävalenz)</li> <li>- Progressive multifokale Leukenzephalopathie</li> </ul>
<b>Monoklonale Antikörper</b> Basiliximab (1998)	Nichtdepletierender chimärer monoklonaler Antikörper; IL-2-Rezeptor-Antagonist	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nebenwirkungsspektrum vergleichbar mit Placebo</li> </ul>
<b>Klassischer polyklonaler AK:</b> Antithymozytenglobulin (1995)	Depletierender polyklonaler Antikörper, blockiert Membranproteine der T-Zelle (u.a. CD2, CD3, CD45), T-Zell-Lyse und anhaltende T-Zell-Depletion	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Zytokinfreisetzungssyndrom</li> </ul>

*MMF / MPA: Mykophenolat-Mofetil / Mykophenolsäure; AZA: Azathioprin; FKBP: FK506 binding protein; Klassischer polyklonaler AK: Klassischer polyklonaler Antikörper*

### **5.2.3 Wichtige Faktoren zur Auswahl immunsuppressiver Medikamente**

Die Auswahl des immunsuppressiven Regimes ist für jeden einzelnen Patienten von vielen individuellen Faktoren abhängig, wie dem Alter des Spenders, der Histokompatibilität zwischen Spender und Empfänger, dem Alter und der Ethnizität des Empfängers, dem Ausmaß der Vorimmunisierung, der Anzahl der vorherigen Transplantationen und der individuellen Toleranz für die immunsuppressive Therapie (50).

Zeitlich unterscheidet man drei Phasen nach Transplantation: die Induktionstherapie, die frühe Erhaltungstherapie und die langfristige Erhaltungstherapie (15, 65, 91). In der Induktionsphase, welche die erste Woche nach Transplantation umfasst, soll ein intensives immunsuppressives Regime während des initialen Kontaktes zwischen dem Immunsystem des Empfängers und dem Spendergewebe hochpotent akute Rejektionen verhindern (91). Dieses immunsuppressive Regime für die Induktionstherapie umfasst in den meisten Fällen neben einer hochdosierten Steroidtherapie einen CNI und einen DNA-Synthese-Hemmer inklusive entweder nicht-depletierender IL-2-Rezeptor-Antikörper oder depletierender polyklonaler Antikörper. Während der frühen Erhaltungstherapie, die bis zu 90 Tage nach Transplantation andauern kann, wird versucht, das zu diesem Zeitpunkt noch sehr hohe Abstoßungsrisiko weiterhin zu minimieren (68), ohne unakzeptable toxische Nebenwirkungen durch die Medikamente zu induzieren (91). In der langfristigen Erhaltungsphase, welche nach etwa 90 Tagen beginnt, wird versucht, die Immunsuppression stetig zu reduzieren, um aufgrund des jetzt vermindertem Risikos einer Rejektion eine nebenwirkungsarme Medikation zu erlauben (91).

### **5.2.4 Immunsuppressive Standardtherapie**

Die meisten immunsuppressiven Regimes basieren seit drei Jahrzehnten auf der Kombination eines Calcineurininhibitors [zunächst vorwiegend Cyclosporin, welches aber vermehrt durch Tacrolimus abgelöst wurde (103)] mit einem DNA-Synthese-Hemmer [zunächst Azathioprin, welches mittlerweile beinahe komplett durch Mykophenolat-Mofetil und Mykophenolsäure ersetzt wurde (103)] und einem Steroid (149).

Diese Konversion der Immusuppressiva von Cyclosporin und Azathioprin auf die potentere immunsuppressive Kombination aus Tacrolimus und MMF / MPA erfolgte mit dem Ziel, durch Reduktion der Inzidenz akuter Rejektionen die Ein-Jahres-Überlebensrate zu

verbessern. Das Langzeitüberleben von Transplantat und Patient besserte sich jedoch nur mäßig (103).

Daher wurde in den letzten Jahren einerseits angestrebt, mittels weiterer Modifikationen der Immunsuppression das Langzeitüberleben der Transplantate zu verbessern (23). Andererseits wurde versucht, durch Modifikation der immunsuppressiven Medikation das kardiovaskuläre Risiko der Patienten zu vermindern, indem bei der individuellen Wahl der immunsuppressiven Therapie Wirkstoffklassen mit ungünstigem Einfluss auf kardiovaskuläre Risikofaktoren in möglichst geringer Dosis eingesetzt oder komplett gemieden werden (218).

Das Ziel einer Verbesserung des Transplantatüberlebens wird insbesondere von neueren, auf mTOR-Inhibitor-Einnahme basierenden, immunsuppressiven Regimen erhofft und wird im folgenden Kapitel diskutiert. Überlegungen zur Verminderung des kardiovaskulären Risikos nierentransplantierter Patienten resultierten im Einsatz steroidfreier Therapieregime, welche detaillierter im übernächsten Kapitel dargestellt sind.

### **5.2.5 CNI-freie, mTOR-Inhibitor-basierte Immunsuppression**

CNI als Standard-Immunsuppressiva in der Transplantationsmedizin sind effektiv, um den frühen Transplantatverlust durch akute Abstoßungsreaktionen zu verhindern, doch eine lange Einnahme von CNI kann nephrotoxisch wirken (9) und in einer chronischen Transplantat-Nephropathie münden, so dass paradoxerweise ein Transplantatverlust droht (110). Zudem sind CNI an der Entstehung von Hypertonie, Hyperlipidämie und Diabetes mellitus beteiligt (208). Um die renale Schädigung und die Steigerung des kardiovaskulären Risikoprofils durch CNI zu umgehen und damit das Langzeitüberleben zu verbessern, wurde nach alternativen nicht-nephrotoxischen, aber dennoch effektiven immunsuppressiven Strategien gesucht (23).

mTOR-Inhibitoren, die eine geringere Nephrotoxizität als CNI, aber dennoch eine gute immunsuppressive Potenz besitzen (22, 149, 164), gerieten hierbei in das Zentrum des Interesses. Initiale Studien untersuchten zunächst eine Kombination von CNI und mTOR-Inhibitoren, welche jedoch mit einem Abfall der glomerulären Filtrationsrate einhergeht (90, 114, 57), verursacht durch eine potenzierte Nephrotoxizität beider Medikamente (126). Daher wurde eine CNI-reduzierte / -freie, mTOR-Inhibitor-basierte Immunsuppression angestrebt (23) und ihre Effektivität und Sicherheit in klinischen Studien untersucht. Diese Studien sind in Tabelle 11 dargestellt und zeigen zusammenfassend, dass sich zwar die

Transplantatfunktion nach Umstellung von einem Calcineurininhibitor auf einen mTOR-Inhibitor verbessert (164), bei Patienten unter mTOR-Inhibitor-Einnahme jedoch häufiger als bei Patienten unter CNI-Therapie unerwünschte Nebenwirkungen auftreten und daher öfter zu Therapieabbrüchen führen (51, 121, 109). Diejenigen Patienten, die die Nebenwirkungen der mTOR-Inhibitoren tolerieren können, profitieren von der verbesserten Transplantatfunktion (164).

Allerdings konnten die meisten dieser Studien aufgrund zu geringer Studiengrößen und zu kurzen Nachbeobachtungszeiträumen nicht hinreichend belegen, ob diese verbesserte Transplantatfunktion auch langfristig in einem verbesserten Transplantatüberleben mündet.

In jedem Falle kann angenommen werden, dass mTOR-Inhibitoren aufgrund ihres postulierten Profits auf die Transplantatfunktion eine immer größere Rolle in der Transplantationsmedizin einnehmen werden. Ihre starken Nebenwirkungen und deren klinische Folgen sind jedoch noch nicht gänzlich untersucht, so dass sie Anstoß zu weiteren Untersuchungen geben sollten. Im gleichen Kontext sollten zukünftige Studien prüfen, inwieweit eine mTOR-Inhibitor-basierte, CNI-freie Immunsuppression das Auftreten und die Progredienz von kardiovaskulären Erkrankungen günstig beeinflussen kann, nachdem momentan widersprüchliche – teilweise positive, teilweise negative – Effekte auf kardiovaskuläre Risikofaktoren und auf die Pathophysiologie der Atherosklerose berichtet werden.

---

### Erläuterungen zu Tabellen 11 und 12:

**AE:** *adverse effects* (je nach Studienprotokoll Anämie, Wundheilungsstörungen, Hyperlipidämie, Malignome, verzögerte Transplantatfunktion, Protein-Kreatinin-Ratio im Urin); **AL-AB:** *Antilymphocyte Antibody*; **Aza:** *Azathioprin*; **BAS:** *Basiliximab*; **BCAR:** *biopsy-confirmed acute rejections*; **CGF:** *Cockcroft-Gault-Formel*; **CsA:** *Cyclosporin A*; **CV-Risiko:** *kardiovaskuläres Risiko*; **DAC:** *Daclizumab*; **DM:** *Diabetes mellitus*; **GFR:** *glomeruläre Filtrationsrate*; **IU:** *Iothalamat-Urinclearance*; **KHK:** *Koronare Herzerkrankung*; **LD:** *Low-Dose*; **MDRD:** *Formel zur Berechnung der eGFR nach „Modifikation of Diet in Renal Disease“*; **MMF:** *Mykophenolat-Mofetil*; **MPA:** *Mykophenolsäure*; **n:** *Anzahl der Studienteilnehmer*; **NF:** *Nankivell-Formel*; **RR:** *arterieller Blutdruck*; **SD:** *Standard-Dose*; **SRL:** *Sirolimus*; **ST:** *Steroid*; **TAC:** *Tacrolimus*; **TX:** *Transplantation / Transplantat*

Tabelle 11: Randomisierte klinische Interventionsstudien zur Effektivität und Sicherheit der mTOR-Inhibitoren nach Nierentransplantation

Studie	n	Medikamentengruppen	Endpunkte	Ergebnisse
<b>RMR</b> (134)	525	<i>Nach TX:</i> SRL + CsA + ST <i>3 Monate nach TX:</i> Randomisierung → <b>A:</b> SRL + CsA + ST <b>B:</b> SRL + ST	<b>Primär:</b> Nicht-Unterlegenheit des Transplantatüberlebens <b>Sekundär:</b> TX- / Patienten-Überleben, akute Abstoßung, Nierenfunktion	<b>B vs. A:</b> Blutdruck ↓, Nierenfunktion ↑ und TX-Überleben ↑
<b>ORION</b> (51)	443	<i>Direkt nach TX</i> Randomisierung → <b>A:</b> SRL + TAC <b>B:</b> SRL + MMF <b>C:</b> TAC + MMF	<b>Primär:</b> eGFR (12. Monat; NF) <b>Sekundär:</b> BCAR, AE, Kreatinin, eGFR (24. Monat; NF), TX- / Patienten-Überleben	<b>A / B vs. C:</b> AE ↑; <b>B:</b> BCAR ↑; <b>A / B / C:</b> TX-Funktion + TX- / Patientenüberleben gleich
<b>Sym-phony</b> (42)	1645	<i>Direkt nach TX</i> Randomisierung → <b>A:</b> SD CsA + SD MMF + ST <b>B:</b> DAC + MMF + ST + LD CsA <b>C:</b> DAC + MMF + ST + LD TAC <b>D:</b> DAC + MMF + ST + LD SRL	<b>Primär:</b> eGFR (12. Monat; CGF) <b>Sekundär:</b> eGFR-Verlauf, mGFR (12. Monat; Sammelurin-Methode), akute Abstoßung, TX- / Patienten-Überleben (6. + 12. Monat), verzögerte TX-Funktion	<b>B:</b> Beste Ergebnisse für eGFR / TX-Überleben (↑), BCAR (↓) <b>D:</b> Schlechteste Ergebnisse für eGFR (↓), BCAR (↑) und AE (↑)
<b>Convert</b> (173)	830	Mind.12 Wochen <i>vor Randomisierung:</i> TAC / CsA + ST + Aza / MMF <i>Nach Randomisierung:</i> <b>A:</b> SRL + ST + Aza / MMF <b>B:</b> TAC / CsA + ST + Aza / MMF	<b>Primär:</b> eGFR (12. Monat; NF) <b>Sekundär:</b> eGFR der Gruppe A (24. Monat; NF); BCAR; TX- / Patienten-Überleben; Therapieabbrüche; Blutdruck	<b>A vs. B</b> bei eGFR > 40 ml/min/1,73m <sup>2</sup> : exzellentes TX- / Patienten-Überleben, Proteinurie ↑, Malignome ↓

Studie	n	Medikamentengruppen	Endpunkte	Ergebnisse
<b>Concept</b> (109)	192	<i>Nach TX:</i> DAC + MMF + ST + CsA <i>12. Woche:</i> <b>A:</b> DAC + MMF + ST + CsA <b>B:</b> DAC + MMF + ST + SRL	<b>Primär:</b> eGFR (52. Woche; CGF) <b>Sekundär:</b> TX- / Patienten-Überleben, BCAR, eGFR (MDRD)	<b>B vs. A:</b> AE + Therapieabbrüche ↑, Nierenfunktion ↑
<b>Post-concept</b> (108)	162	siehe Concept-Studie (Langzeit-Nachuntersuchungen nach vier Jahren)	<b>Primär:</b> eGFR (48. Monat; MDRD und NF) <b>Sekundär:</b> TX- / Patienten-Überleben, BCAR; eGFR-Verlauf; AE	<b>B vs. A:</b> Nierenfunktion ↑
<b>Spare-the-Nephron</b> (212)	299	<i>Nach TX:</i> MMF + TAC / CsA <i>Umstellung nach 4 Monaten:</i> <b>A:</b> MMF + TAC / CsA <b>B:</b> MMF + SRL	<b>Primär:</b> eGFR (12. Monat; IU) <b>Sekundär:</b> eGFR (24. Monat; IU), eGFR (12. / 24. Monat NF; CGF) BCAR; TX- / Patienten-Überleben	<b>B vs. A:</b> ähnliche eGFR, Todesfälle ↓, BCAR ↓ und Transplantatversagen ↓
<b>ZEUS</b> (23)	300	<i>Nach TX:</i> BAS + CsA + MPA + ST <i>4,5 Monate nach TX:</i> <b>A:</b> CsA + MPA + ST <b>B:</b> SRL + MPA + ST	<b>Primär:</b> eGFR (12. Monat; NF) <b>Sekundär:</b> eGFR (12. Monat; MDRD / CGF), BCAR, TX-Verlust, Tod, Therapieversagen, Verträglichkeit, Änderungen im CV-Risiko	<b>B vs. A:</b> Nierenfunktion ↑ nach einem Jahr bei gleicher Effektivität und Sicherheit
<b>Central</b> (121)	202	<i>Nach TX:</i> BAS + MPA + ST + CsA <i>7 Wochen nach TX:</i> <b>A:</b> MPA + ST + CsA <b>B:</b> MPA + ST + Everolimus	<b>Primär:</b> eGFR-Änderung (Woche 7 → Monat 12; CGF) <b>Sekundär:</b> TX- / Patienten-Überleben; BCAR; AE; Therapieabbrüche	<b>B vs. A:</b> Nierenfunktion ↑ nach einem Jahr; Therapieabbrüche + BCAR ↑

### **5.2.6 Steroidfreie Immunsuppression**

Schon in den frühen Jahren der Nierentransplantation wurde deutlich, dass eine langfristige Erhaltungstherapie mit Steroiden für einen relevanten Teil der Morbidität der Patienten verantwortlich war (12). Zu den unerwünschten Effekten der Steroide zählen erhöhte Infektanfälligkeit, Gewichtszunahme bis zum Cushing-Syndrom, Katarakte, Glukoseintoleranz, Myopathie, Natriumretention mit Ausbildung von Ödemen und Hypertonie, Hyperlipidämie und eine Reihe skelettaler Effekte wie Osteopenie, aseptische Femurkopfnekrosen und bei Kindern und Jugendlichen vermindertes Körperwachstum (12), welche eine große physische und psychische Belastung für den betroffenen Patienten darstellen (148). Viele dieser steroidinduzierten Nebenwirkungen, die auch bei niedrigen Steroiddosen auftreten können, tragen zur erhöhten kardiovaskulären Morbidität und Mortalität bei (171).

Die Idee einer steroidfreien Immunsuppression wurde mit dem Ziel der Verminderung dieser Nebenwirkungen postuliert (100). Diese könnte wiederum in einer verbesserten Lebensqualität (43) und einer erhöhten Compliance münden, welche ihrerseits zu einem niedrigeren Risiko für akute und chronische Abstoßungen sowie für Transplantatverluste führen könnten (72). Gleichzeitig erhofft man sich, dass die Verminderung kardiovaskulärer Nebenwirkungen (100) die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität reduziert (171).

Zur Überprüfung dieser erhofften positiven Effekte untersuchten mehrere klinische Studien, inwieweit eine entweder komplett steroidfreie Therapie oder ein protokollgemäßes Absetzen der Steroide nach Nierentransplantation in einer Minimierung steroidinduzierter Nebenwirkungen mündet, ohne zu einer inakzeptablen Erhöhung des Abstoßungsrisikos zu führen (100). Wie in Tabelle 12 zusammengefasst, erkannten diese Studien in ihrer Mehrzahl, dass bei einer steroidfreien Immunsuppression das Risiko für eine akute Abstoßung zwar erhöht ist, ohne dass jedoch langfristig eine Beeinträchtigung des mittleren Patienten- oder des Transplantatüberlebens resultiert (148).

Tabelle 12: Randomisierte klinische Interventionsstudien zur Effektivität und Sicherheit steroidfreier Therapieregime nach Nierentransplantation

Studie	n	Medikamentengruppen	Endpunkte	Ergebnisse
<b>Krämer et al., 2012</b> (104)	451	<i>Direkt nach TX:</i> Randomisierung → <b>A:</b> TAC + BAS <b>B:</b> TAC + MMF <b>C:</b> TAC + MMF + ST	<b>Wirksamkeit:</b> BCAR, TX- / Patientenüberleben, GFR (3. Jahr, MDRD) <b>Sicherheit:</b> AE, Co-Medikation, Änderungen in Laborparametern / Vitalzeichen	<b>A + B vs. C:</b> BCAR ↑, aber gleiche(s) TX- / Patientenüberleben / Nierenfunktion <b>A:</b> geringstes CV-Risiko
<b>Vincenti et al., 2003</b> (202)	83	<i>4 Tage lang nach TX:</i> BAS + CsA + MMF + ST <i>ab 5. Tag → Randomisierung</i> <b>A:</b> CsA + MMF <b>B:</b> CsA + MMF + ST	<b>Primär:</b> BCAR <b>Sekundär:</b> TX- / Patientenüberleben, Histologiebefund und Anzahl der behandlungsbedürftigen Abstoßungen	<b>A vs. B:</b> keine Unterschiede in BCAR, TX-Funktion, AE, Infektionen
<b>Vincenti et al., 2008</b> (203)	336	Randomisierung <i>direkt nach TX:</i> <b>A:</b> MPA + BAS + CsA <b>B:</b> MPA + BAS + CsA + ST bis 7. Tag post-TX <b>C:</b> MPA + BAS + CsA + SD ST	<b>Wirksamkeit:</b> GFR (12. Monat, NF), TX- / Patientenüberleben, BCAR, Anzahl der Patienten mit steroidfreier Immunsuppression nach 12 Monaten <b>Sicherheit:</b> AE, RR, Laborparameter (Lipide, Glukose), Knochendichte	<b>A / B / C:</b> gleiche GFR <b>A &gt; B &gt; C:</b> BCAR, TX-Verlust, Versterben des Patienten <b>A + B vs. C:</b> benötigte Co-Mediation ↓

Studie	n	Medikamentengruppen	Endpunkte	Ergebnisse
<b>Pelletier et al., 2005</b> (144)	120	<i>Erhaltungstherapie mit MMF + CsA + ST</i> <i>Nach ca. 450 Tagen → Randomisierung</i> <b>A:</b> MMF + CsA <b>B:</b> MMF + CsA + ST	<b>Primär:</b> Akute / chronische Abstoßung, TX-Verlust, Kreatinin, Proteinurie <b>Sekundär:</b> Gewicht, RR, Cholesterin, Triglyceride, P-Glukose, Knochendichte	<b>A vs. B:</b> keine Unterschiede in TX- / Patientenüberleben, TX-Funktion, Abstoßungsrate, aber steroid-induzierte AE ↓
<b>Woodle et al., 2008</b> (217)	386	<i>Direkt nach TX → Randomisierung</i> <i>Antikörper-Induktion + ST + MMF + TAC</i> <b>A:</b> MMF + TAC; ST-Absetzen ab 7. Tag post-TX <b>B:</b> MMF + TAC; ST-Reduktion → ab 6. Monat post-TX LD ST	<b>Primär:</b> Kombination aus Tod, TX-Verlust, milde / ernste akute Abstoßung, eine AL-AB-Behandlung erforderliche Abstoßung <b>Sekundär:</b> TX- / Patientenüberleben, Beenden der Studienmedikation, Framingham-KHK-Risiko, akute Abstoßung, CV-Risiko, Gewicht, Infektion, GFR (5. Jahr, CGF), AE, Leukopenie, Malignome	<b>A vs. B:</b> BCAR ↑, aber gleiches Langzeit-TX-Überleben und gleiche TX-Funktion; niedrigeres CV-Risiko

### **5.2.7 Vergleich der HOMe Alone Studie mit Voruntersuchungen**

Die Patientendaten der HOMe Alone Studie spiegeln das medikamentöse Standardregime der Klinik für Innere Medizin IV des Universitätsklinikums des Saarlandes bei stabilen Transplantatempfängern im Jahr 2012 / 2013 wider. Eine Dreifachkombination, welche insbesondere für die frühe Erhaltungstherapie typisch ist, nahmen zum Untersuchungszeitpunkt 37,1 % der Patienten ein, wogegen bei 60,4 % der Patienten die Medikation auf zwei Immunsuppressiva reduziert worden war (s. Anhang, Tabelle 19, S. 116). Die häufigste Medikamentenkombination stellt eine Dreifachtherapie aus Steroid, Tacrolimus und MMF dar, welche jeder vierte Patient erhielt (s. Anhang, Tabelle 18, S. 116).

Ein Vergleich mit einer Querschnittsanalyse aus dem gleichen Transplantationszentrum, welche 2003 / 2004 bei transplantierten Patienten erhoben wurde (194), reflektiert die deutliche Veränderung der immunsuppressiven Medikation im letzten Jahrzehnt (Tabelle 13). So ist die Häufigkeit eines steroidfreien Therapieregimes von 19 % auf 28 % gestiegen. Ebenso lässt sich der Trend zum Einsatz neuerer Immunsuppressiva erkennen: Während 2003 / 2004 noch 32 % der Patienten Azathioprin und nur 5 % der Patienten MMF erhielten, nehmen nur noch 3 % Patienten der HOMe Alone Studie Azathioprin und 67 % MMF / MPA ein; 2003 / 2004 erhielten 60 % der Patienten Cyclosporin A und 38 % Tacrolimus, in der HOMe Alone Studie nur 13 % Cyclosporin A, aber 63 % Tacrolimus. Im Gegensatz zu 2003 / 2004, als noch kein einziger nierentransplantiertes Patienten des Universitätsklinikums des Saarlandes mit mTOR-Inhibitoren (Sirolimus oder Everolimus) therapiert wurde, erhielten 17 % der Patienten der HOMe Alone Studie mTOR-Inhibitoren.

**Tabelle 13:** Vergleich der eingesetzten Immunsuppressiva bei nierentransplantierten Patienten des Universitätsklinikums des Saarlandes im Jahr 2003 / 2004 [modifiziert nach (194)] und im Jahr 2012 / 2013 (HOME Alone Studie)

	Ulrich et al. (n = 95): 2003 / 2004			HOME Alone (n = 159): 2012 / 2013		
	Kein Steroid 18 / 95 (19 %)	Steroid 77 / 95 (81 %)	Gesamt	Kein Steroid 45 / 159 (28 %)	Steroid 114 / 159 (72 %)	Gesamt
<b>CsA</b>	17 / 95 (19 %)	40 / 95 (42 %)	57 / 95 (60 %)	8 / 159 (5 %)	13 / 159 (8 %)	21 / 159 (13 %)
<b>TAC</b>	1 / 95 (1 %)	35 / 95 (37 %)	36 / 95 (38 %)	34 / 159 (21 %)	66 / 159 (42 %)	100 / 159 (63 %)
<b>Kein CNI</b>	0	2 / 95 (2 %)	2 / 95 (2 %)	3 / 159 (2 %)	35 / 159 (22 %)	38 / 159 (24 %)
<b>AZA</b>	6 / 95 (6 %)	24 / 95 (25 %)	30 / 95 (32 %)	2 / 159 (1 %)	2 / 159 (1 %)	4 / 159 (3 %)
<b>MMF *</b>	1 / 95 (1 %)	4 / 95 (4 %)	5 / 95 (5 %)	39 / 159 (25 %)	68 / 159 (43 %)	107 / 159 (67 %)
<b>mTOR-I</b>	0	0	0	3 / 159 (2 %)	24 / 159 (15 %)	27 / 159 (17 %)

Angaben in Absolutzahlen (Prozent aller Patienten). \* Marktzulassung von MPA erst 2004, somit bei Patienten 2003 / 2004 nur MMF, bei HOME ALONE MMF / MPA

CsA: Cyclosporin A; TAC: Tacrolimus; CNI: Calcineurininhibitor; AZA: Azathioprin; MMF: Mykophenolat-Mofetil; MPA: Mykophenolsäure; mTOR-I: mTOR-Inhibitor

Innerhalb von HOME Alone zeigt ein Vergleich von Patienten mit und ohne Steroideinnahme respektive mit und ohne mTOR-Inhibitor-Einnahme relevante Unterschiede in klassischen und transplantationsassoziierten kardiovaskulären Risikofaktoren: So reflektiert auch die HOME Alone Studie den unerwünschten Effekt der mTOR-Inhibitoren auf den Lipidmetabolismus (190), indem Patienten unter mTOR-Inhibitor-Einnahme signifikant höhere Gesamtcholesterinwerte und tendenziell höhere HDL- / LDL-Cholesterin- und Triglycerid-Werte aufwiesen. Patienten der HOME Alone Studie hatten signifikant höhere systolische und tendenziell auch höhere diastolische Blutdruckwerte unter mTOR-Inhibitor-Einnahme als Patienten ohne mTOR-Inhibitor-Einnahme. Diese unerwünschte Nebenwirkung von mTOR-Inhibitoren auf den Blutdruck wurde bisher - mit Ausnahme der RMR-Studie (134), bei der durch Weglassen von Calcineurininhibitoren mit fortgesetzter Sirolimus-Einnahme eine Verbesserung des Blutdruckes erreicht werden konnte - nur in kombinierter Gabe mit Calcineurininhibitoren beschrieben (65). In der HOME Alone Studie nahm lediglich ein Patient gleichzeitig einen Calcineurininhibitor und einen mTOR-Inhibitor ein, sodass dieser Unterschied nicht auf den Effekt der Kombination beider Medikamente zurückzuführen ist. Auffällig ist jedoch, dass von den 27 Patienten mit mTOR-Inhibitor-Einnahme 24 Patienten gleichzeitig Steroide einnahmen, wogegen nur 3 Patienten eine steroidfreie, mTOR-Inhibitor-basierte Medikation aufwiesen. Dies lässt vermuten, dass der blutdruckerhöhende Effekt auf die Co-Medikation mit Steroiden, welche einen bekannten blutdruckerhöhenden Effekt haben, zurückzuführen ist. Eine weitere Erklärung für den höheren Blutdruck unter mTOR-Inhibitor-Einnahme liegt im nicht-interventionellen Studiendesign, da eine Konversion auf mTOR-Inhibitoren vorzugsweise bei Patienten mit schlechterer Nierenfunktion erfolgte, bei denen man sich eine günstige Wirkung auf die Transplantatfunktion erhoffte. Somit könnte der höhere Blutdruck nicht kausal auf die immunsuppressive Medikation zurückgeführt werden, sondern könnte auch durch die schlechte Nierenfunktion dieser Patienten mit konsekutiv höheren Blutdruckwerten zu erklären sein. Ein Effekt von mTOR-Inhibitoren auf die Entstehung von Diabetes mellitus ist bekannt (15), doch die Patienten der HOME Alone Studie unter mTOR-Inhibitor-Einnahme wiesen keine erhöhte Frequenz einer Hyperglykämie oder eines Diabetes mellitus auf. Eventuell ist die Anzahl von Patienten unter mTOR-Inhibitor-Einnahme zu gering, um diesen unerwünschten Nebeneffekt zu erkennen. Alternativ könnte die Konversion auf mTOR-Inhibitoren präferentiell bei Patienten ohne Risiko für einen späteren Diabetes mellitus erfolgt sein.

mTOR-Inhibitoren beeinflussen auch nicht-klassische, transplantations-assoziierte kardiovaskuläre Risikofaktoren: Bei Patienten unter mTOR-Inhibitor-Einnahme besteht eine

Tendenz zu niedrigerem Hämoglobin als bei Patienten ohne mTOR-Inhibitor. Einerseits könnte dies durch den beschriebenen suppressiven Effekt von mTOR-Inhibitoren auf das Knochenmark bis hin zu Anämie erklärt werden, andererseits besteht auch hier die Überlegung, dass die Medikation von Patienten mit schlechter Nierenfunktion auf einen mTOR-Inhibitor umgestellt wird, sodass der niedrigere Hämoglobinwert nicht nur durch die Einnahme von mTOR-Inhibitoren entsteht, sondern auch die geringere Nierenfunktion dieser Patienten reflektiert. Unter mTOR-Inhibitor-Einnahme weisen die Patienten signifikant niedrigere GFR-Werte mit konsekutiv erhöhtem Plasma-Kreatinin und Cystatin C, sowie eine höhere Albuminurie auf. Der proteinurische Effekt von mTOR-Inhibitoren wurde bereits im Rahmen einiger Studien nachgewiesen (65, 221, 92) und kann mit unseren Daten bestätigt werden. Patienten mit niedriger GFR und hohem Kreatinin / Cystatin C werden bewusst mTOR-Inhibitoren verabreicht, da sie eine geringere Nephrotoxizität als Calcineurininhibitoren aufweisen und somit eine Verringerung der CNI-vermittelten Nephrotoxizität erhofft wird (29). Die schlechteren Nierenfunktionsparameter weisen also nicht auf die nierenschädliche Wirkung von mTOR-Inhibitoren hin, sondern auf die bereits vorbestehende schlechtere Nierenfunktion dieser Patienten.

Ebenso können die bekannten Einflüsse der Steroidmedikation auf das kardiovaskuläre Risikoprofil im Querschnittsdesign von HOME ALONE nur eingeschränkt überprüft werden. So weisen Patienten unter Steroideinnahme paradoxerweise im Gegensatz zu Patienten ohne Steroideinnahmen niedrigere Plasma-Glukosewerte, geringeres Gewicht und somit geringeren BMI, ähnliche „Waist-to-hip-ratio“ (welches aufgrund des gleichzeitig geringeren BMI auf eine Verschiebung der Körperfettverteilung mit Stammadipositas hinweist), ähnliche Prävalenz von Diabetes mellitus sowie ähnliche Blutdruckwerte auf. Dieser vermeintliche Widerspruch erklärt sich aus einem Selektionsbias, indem bei Patienten, deren kardiovaskuläres Risikoprofil entweder bereits vor Transplantation oder nach Beginn der Steroidtherapie nach Transplantation erhöht ist, präferentiell ein steroidfreies immunsuppressives Regime angewendet wird. Jedoch sind die Unterschiede im Lipidstoffwechsel erwartungsgemäß (15): Patienten unter Steroideinnahme haben ein signifikant höheres Gesamtcholesterin und HDL-Cholesterin sowie tendenziell höhere LDL-Cholesterin- und Triglycerid-Werte als Patienten ohne Steroideinnahme. Erwartungsgemäß ist ebenso, dass bei ähnlichem Plasma-Kreatinin und ähnlicher (Kreatinin-basierter) geschätzter GFR unter Steroideinnahme ein höheres Cystatin C als bei Patienten ohne Steroideinnahme beobachtet wird, da Steroide höhere Cystatin C Werte induzieren können (82).

### **5.3 Bedeutung der Monozytensubpopulationen in der Atherogenese**

Epidemiologische Studien beschrieben eine Assoziation von höheren Gesamtmonozytenzahlen im peripheren Blut sowohl mit subklinischer Atherosklerose (28, 89) als auch mit klinisch manifesten kardiovaskulären Ereignissen (89, 28, 130) in Kohortenstudien bei nierengesunden Menschen der Allgemeinbevölkerung (28, 89) und bei zumeist nierengesunden Patienten mit erhöhtem kardiovaskulären Risiko (78, 37). Andere Studien konnten dies allerdings nicht bestätigen (151, 56, 187).

Aufgrund dieser Diskrepanzen erscheint es notwendig, die Heterogenität von Monozyten einzubeziehen und die jeweiligen Monozytensubpopulationen hinsichtlich ihres Beitrages zum kardiovaskulären Risikos zu untersuchen (73).

1989 zeigten Passlick et al., dass Monozyten durchflusszytometrisch in CD16-negative (klassische CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup> Monozyten) und CD16-positive Zellen unterteilt werden können (143). Ancuta et al. teilten 2003 die CD16-positiven Monozyten nochmals in intermediäre CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> und nicht-klassische CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup> Monozyten auf (8). Diese Einteilung wurde 2010 in einem Konsensus-Manuskript von Ziegler-Heitbrock et al. (226) aufgenommen. Ältere Studien bis 2009 bezogen sich aufgrund der bis dahin nicht einheitlichen Nomenklatur zumeist auf die Untersuchung von CD16-positiven Monozyten als Gesamtheit der intermediären und nicht-klassischen Monozyten, während eine getrennte Untersuchung dieser Monozytensubpopulationen erst in den darauffolgenden Jahren schrittweise etabliert wurde.

Epidemiologische Studien zeigen, dass die Zellzahl intermediärer und nicht-klassischer Monozyten sowohl bei akuten [Sepsis: (49)] als auch bei chronischen und entzündlichen Erkrankungen wie HIV, Tbc, Erysipel, Leishmaniose, Rheumatoider Arthritis, Kawasaki-Krankheit, chronischen Darmerkrankungen und Malignomen erhöht sind (192, 198, 77, 184, 161, 99, 97, 62, 169, 167, 155).

Experimentelle Arbeiten lieferten Erklärungen zur spezifischen Rolle von Monozytensubpopulationen in der Atherogenese. So zeigten Weber et al., dass intermediäre und nicht-klassische Monozyten eine hohe endotheliale Affinität durch Oberflächenexpression von Chemokin-Rezeptoren und Adhäsionsmolekülen wie CX<sub>3</sub>CR1 und CCR5 aufweisen (207), von welchen besonders CCR5 die Migration der Zellen aus der Zirkulation in atherosklerotische Läsionen fördert (19, 223, 156). Neben der vermehrten Expression von Chemokin-Rezeptoren

(119) und der erhöhten Adhäsion an Endothelzellen (119) besteht das proinflammatorische Potential CD16-positiver Monozyten auch in gesteigerter Produktion proinflammatorischer Zytokine (119) wie IL-12 (188) und TNF $\alpha$  (177, 52, 188) bei gleichzeitig verminderter Produktion des anti-inflammatorischen Interleukins IL-10 (16, 52, 188). Mosig et al. zeigten an einer Gruppe von Patienten mit Hypercholesterinämie, dass CD16-positive Monozyten über CD36 vermehrt oxidiertes LDL aufnehmen, nach Stimulation mit oxidiertem LDL die Adhärenz an aktivierte Endothelzellen zunimmt und dass CD16-positive Zellen an ihrer Oberfläche mehr CD68, Stabilin-1 und CD11c exprimieren (124). Ulrich et al. zeigten, dass Dialysepatienten insbesondere mit hochgradigen atherosklerotischen Veränderungen der Karotiden (196) sowie mit vorbestehenden kardiovaskulären Erkrankungen (193) eine verstärkte Expression von ACE (ACE = angiotensin converting enzyme) auf der Oberfläche von Monozyten, darunter insbesondere von intermediären Monozyten (196), aufweisen.

#### **5.4 Zusammenhang von Monozytensubpopulationen und kardiovaskulären Risikofaktoren / Erkrankungen**

Aufgrund der zentralen Rolle von Monozyten in der Entstehung der Atherosklerose wurden Monozytensubpopulationen im Kontext kardiovaskulärer Erkrankungen in den letzten Jahren intensiv untersucht (220, 86, 54). So hat unsere Arbeitsgruppe in fünf Kollektiven nierengesunder und chronisch nierenkranker Menschen die Assoziationen zwischen Zellzahlen der Gesamtmonozyten, klassischen, intermediären und nicht-klassischen Monozyten, traditionellen und nicht-traditionellen Risikofaktoren sowie kardiovaskulären Ereignissen untersucht:

- I Like HOME: gesunde Probanden der Allgemeinbevölkerung
- HOM Sweet HOME: kardiovaskuläre Risikopatienten vor elektiver Koronarangiographie
- CARE for HOME: chronisch nierenkranke, nicht-dialysepflichtige Patienten (CKD G2 – G4)
- DIAL HOME: Dialysepatienten
- HOME Alone: Patienten nach allogener Nierentransplantation

Tabelle 14 fasst die Ergebnisse dieser Kohortenstudien zusammen. Darin ist zu erkennen, dass gesunde Probanden die niedrigsten und nierentransplantierte Patienten die höchsten Zellzahlen an Gesamtmonozyten aufweisen. Innerhalb der CARE for HOME und der HOME ALONE

Studien zeigt sich die Tendenz zu höheren Zellzahlen der Gesamtmonozyten mit zunehmend schlechterer Nierenfunktion.

Ebenso zeigt Tabelle 14, dass die Zellzahl intermediärer Monozyten am niedrigsten bei gesunden Probanden und am höchsten bei kardiovaskulären Risikopatienten vor elektiver Koronarangiographie sowie bei Patienten mit fortgeschrittener chronischer Nierenerkrankung und bei Patienten mit eingeschränkter Transplantatfunktion ist, interessanterweise aber nicht bei Dialysepatienten. Eine mögliche Erklärung dieses vermeintlich paradoxen Befundes könnte sein, dass der urämische Status mittels Dialysebehandlung verbessert wird und daher die Zellzahl intermediärer Monozyten abnimmt. Im Gegensatz zur relativ geringen Zellzahl an intermediären Monozyten haben Dialysepatienten jedoch die höchste Zellzahl nicht-klassischer Monozyten.

Während I Like HOME und DIAL HOME Querschnittsstudien sind, erfolgte innerhalb der CARE for HOME und HOM sweet HOME eine strukturierte Nachuntersuchung der Studienteilnehmer. Hierbei konnte HOM sweet HOME als erste Längsschnittstudie aufzeigen, dass bei kardiovaskulären Risikopatienten die Zellzahlen der intermediären Monozyten unabhängige Prädiktoren späterer kardiovaskulärer Ereignisse sind (154). Vorherige, kleinere Kohortenstudien bei Dialysepatienten konnten ebenfalls Assoziationen zwischen hohen Zellzahlen intermediärer Monozyten und höheren Raten kardiovaskulärer Ereignisse und Todesfällen zeigen (70, 195, 158).

Bisherige Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen zur Monozytenheterogenität waren weitgehend auf Querschnittsanalysen limitiert, und differenzierten zumeist nicht zwischen intermediären und nicht-klassischen Monozyten (220):

So zeigten Scherberich et al. als erste Arbeitsgruppe, dass Hämodialyse- (176, 175) und nierentransplantierte Patienten (175) eine höhere relative Zellzahl CD16-positiver Monozyten (prozentualer Anteil der jeweiligen Monozytensubpopulation an der Gesamtpopulation der Monozyten) aufweisen als gesunde Kontrollpersonen. Die Beobachtung wurde von verschiedenen Arbeitsgruppen bestätigt [(18, 27, 98, 180), zusammengefasst bei Zawada et al (220)], aber zumeist nicht im Kontext der erhöhten kardiovaskulären Morbidität nierenkranker Menschen diskutiert.

Ulrich et al. verglichen zudem Zellzahlen intermediärer und nicht-klassischer Monozyten von Hämodialyse- und nierentransplantierten Patienten und stellten fest, dass Transplantierte unter Steroidtherapie gegenüber Dialysepatienten bei gleichen relativen Zellzahlen intermediärer Monozyten geringere relative Zellzahlen nicht-klassischer Monozyten aufwiesen (194). Ebenso

verglichen sie die relativen Zellzahlen intermediärer und nicht-klassischer Monozyten von Transplantierten mit und ohne Steroid: Patienten mit Steroideinnahme wiesen bei gleicher relativer Zellzahl intermediärer Monozyten weniger nicht-klassische Monozyten auf (194). Im Gegensatz dazu zeigen transplantierte Patienten der HOME Alone Studie unter Steroidtherapie bei höheren absoluten Zellzahlen intermediärer Monozyten geringere absolute Zellzahlen von nicht-klassischen Monozyten. Die Diskrepanz der Zellzahlen intermediärer Monozyten könnte sich durch die unterschiedliche Art der Zellzahl-Angabe ergeben (Ulrich: relative Zellzahl; HOME Alone: absolute Zellzahlen).

Im Einklang hiermit zeigt sich ein deutlicher Unterschied bei Betrachtung von relativen und absoluten Zellzahlen in der Studie von Vereyken et al (199): Sie verglichen relative und absolute Monozyten-Zellzahlen nierentransplantierte Patienten unter Tripeltherapie (CNI, MMF und Steroide, welche bis zum 4. Monat ausgeschlichen wurden) und gesunden Kontrollpersonen. Während zum Zeitpunkt der Transplantation sowohl absolute als auch relative Zellzahlen der intermediären und nicht-klassischen Monozyten bei transplantierten Patienten höher waren als bei gesunden Kontrollpersonen, waren absolute Zellzahlen der klassischen Monozyten bei transplantierten Patienten und Gesunden gleich und relative Zellzahlen der klassischen Monozyten bei transplantierten Patienten niedriger als bei Gesunden. 3 bzw. 6 Monate nach der Transplantation waren sowohl absolute als auch relative Zellzahlen der klassischen Monozyten bei Transplantierten niedriger als bei Gesunden, wobei absolute Zellzahlen der intermediären und nicht-klassischen Monozyten transplantierte Patienten ähnlich waren wie bei Gesunden und die relativen Zellzahlen der intermediären und nicht-klassischen Monozyten bei transplantierten Patienten höher waren als bei Gesunden.

Auch außerhalb des nephrologischen Fachbereichs erkannten mehrere klinische Querschnittsstudien eine Assoziation zwischen CD16-positiven Monozyten und prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen. So berichteten Schlitt et al. einen Zusammenhang CD16-positiver Monozyten und prävalenter koronarer Herzerkrankung bei Patienten mit stabiler Angina pectoris und bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom (177). Weitere zwei Studien untersuchten bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung den Zusammenhang von Monozytensubpopulationen und morphologischen Charakteristika koronarer Plaques. Dabei konnte eine positive Korrelation zwischen CD16-positiven Monozyten und der Plaquevulnerabilität (93) sowie eine negative Korrelation von CD16-positiven Monozyten und der (präsumtiv protektiven) Kappendicke von Plaques (84) gesehen werden.

Tabelle 14: Zellzahlen von Gesamt-, klassischen, intermediären und nicht-klassischen Monozyten in den verschiedenen Kohorten des HOME Studienprojektes

		<b>Gesamt- monozyten</b> [Zellen / $\mu$ l]	<b>Klassische Monozyten</b> [Zellen / $\mu$ l]	<b>Intermediäre Monozyten</b> [Zellen / $\mu$ l]	<b>Nicht-klassische Monozyten</b> [Zellen / $\mu$ l]
<b>I Like HOME</b> (n = 418) gesunde Probanden		488 $\pm$ 167	412 $\pm$ 150	27 $\pm$ 16	48 $\pm$ 24
<b>HOM sweet HOME</b> (n = 951) Patienten vor elektiver Koronarangiographie		583 $\pm$ 211	470 $\pm$ 179	42 $\pm$ 24	71 $\pm$ 37
<b>CARE for HOME</b> (n = 438) Patienten mit CKD G2 – G4	G 2	559 $\pm$ 193	466 $\pm$ 167	31 $\pm$ 18	61 $\pm$ 31
	G 3	555 $\pm$ 208	456 $\pm$ 177	34 $\pm$ 21	65 $\pm$ 33
	G 4	580 $\pm$ 197	479 $\pm$ 172	39 $\pm$ 25	62 $\pm$ 28
<b>DIAL HOME</b> (n = 44) Dialyse-Patienten		562 $\pm$ 322	426 $\pm$ 281	33 $\pm$ 24	103 $\pm$ 59
<b>HOME Alone</b> (n = 154) TX-Patienten	G 1 / 2	671 $\pm$ 234	579 $\pm$ 206	34 $\pm$ 25	59 $\pm$ 31
	G 3	686 $\pm$ 249	587 $\pm$ 222	33 $\pm$ 19	66 $\pm$ 36
	G 4 / 5	706 $\pm$ 205	605 $\pm$ 187	41 $\pm$ 21	60 28

TX-Patienten: Nierentransplantierte-Patienten; G 1 - 5: Stadien der Nierenfunktion nach geschätzter glomeruläre Filtrationsrate: G 1:  $\geq 90$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; G 2: 60 – 89 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; G 3: 30 – 59 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; G 4: 15 – 29 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; G 5: < 15 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>

Aufgrund dieser epidemiologischen Studien zur kardiovaskulären Bedeutung von Monozytensubpopulationen wurden in zahlreichen Untersuchungen traditionelle und nicht-traditionelle kardiovaskuläre Risikofaktoren im Kontext der Monozytenheterogenität untersucht.

Tabelle 15 zeigt Korrelationen ausgewählter kardiovaskulärer Risikofaktoren mit Zellzahlen von Gesamtmonozyten und klassischen, intermediären und nicht-klassischen Monozyten innerhalb der Kohorten des HOME Studienprojektes. Die deutlichsten Assoziationen zeigen sich zwischen Body-Mass-Index sowie bestimmten Lipidparametern (HDL-Cholesterin / Triglyceride) und der Anzahl nicht-klassischer Monozyten sowie zwischen einer niedrigen glomerulären Filtrationsrate und der Anzahl intermediärer Monozyten: So waren erhöhtes Körpergewicht, hohe Triglyceride und niedriges HDL-Cholesterin mit hohen Zellzahlen der nicht-klassischen Monozyten und eine verminderte exkretorische Nierenfunktion mit hohen Zahlen intermediärer Monozyten assoziiert.

Außerhalb des HOME Studienprojektes bestätigten Cottam et al. eine positive Korrelation zwischen Adipositas und CD16-positiven Monozyten; darüber hinaus erkannten Cottam et al., dass die Zellzahlen intermediärer und nicht-klassischer Monozyten nach Gewichtsabnahme abfallen (30). Daten von Poitou zeigten über die positive Korrelation von intermediären und nicht-klassischen Monozyten mit dem BMI eine Assoziation dieser Monozytensubpopulationen mit DXA-bestimmten Körperfett (Dual-Röntgen-Absorptiometrie), Glukosetoleranz, Insulinsensitivität und Entzündungsmarkern wie dem C-reaktiven Protein (147). Rothe et al. erkannten bei Patienten mit Hypercholesterinämie eine negative Korrelation zwischen der Anzahl nicht-klassischer Monozyten und HDL-Cholesterin (162) sowie eine positive Korrelation zwischen der Anzahl nicht-klassischer Monozyten und Triglyceriden (163). In einem Kollektiv von Patienten mit instabiler Angina pectoris konnte die Korrelation zwischen nicht-klassischen Monozyten und Markern des Lipidmetabolismus (LDL, LDL / HDL-Ratio) nicht bestätigt werden, was möglicherweise auf Veränderungen des Lipidmetabolismus und der Monozytenentwicklung im akuten Koronarsyndrom zurückgeführt werden kann (84).

Tabelle 15: Korrelation der Monozyten mit BMI, eGFR, Gesamt- und HDL-Cholesterin sowie Triglyceriden in den verschiedenen Kohorten des HOME Studienprojektes

		Gesamt-monozyten [Zellen / $\mu$ l]		Klassische Monozyten [Zellen / $\mu$ l]		Intermediäre Monozyten [Zellen / $\mu$ l]		Nicht-klassische Monozyten [Zellen / $\mu$ l]	
		r	p	r	p	r	p	r	p
<b>I like HOME</b> (Gesunde Probanden) n = 418	BMI	0,136	<b>0,006</b>	0,076	0,124	0,166	<b>0,001</b>	0,327	<b>&lt; 0,001</b>
	eGFR	0,121	<b>0,013</b>	0,128	<b>0,009</b>	0,054	0,268	0,046	0,352
	Gesamtcholesterin	-0,051	0,303	-0,054	0,266	-0,021	0,670	-0,009	0,849
	HDL-Cholesterin	-0,109	<b>0,026</b>	-0,097	<b>0,048</b>	-0,105	<b>0,033</b>	-0,103	<b>0,036</b>
	Triglyceride	0,159	<b>0,001</b>	0,141	<b>0,004</b>	0,104	<b>0,033</b>	0,166	<b>0,001</b>
<b>HOM sweet HOME</b> (Patienten vor elektiver Koronarangiographie) n = 951	BMI	0,047	0,150	0,011	0,728	0,064	<b>0,049</b>	0,164	<b>&lt; 0,001</b>
	eGFR	-0,022	0,506	0,011	0,724	-0,148	<b>&lt; 0,001</b>	-0,092	<b>0,004</b>
	Gesamtcholesterin	-0,048	0,136	-0,051	0,116	-0,045	0,163	-0,007	0,838
	HDL-Cholesterin	-0,150	<b>&lt; 0,001</b>	-0,148	<b>&lt; 0,001</b>	-0,131	<b>&lt; 0,001</b>	-0,052	0,112
	Triglyceride	0,078	<b>0,016</b>	0,057	0,077	0,069	<b>0,035</b>	0,104	<b>0,001</b>
<b>Care for HOME</b> (Patienten mit CKD G2 – G4) n = 438	BMI	0,107	<b>0,025</b>	0,091	0,057	0,063	0,190	0,155	<b>0,001</b>
	eGFR	-0,064	0,184	-0,045	0,351	-0,148	<b>0,002</b>	-0,080	0,094
	Gesamtcholesterin	-0,079	0,097	-0,080	0,095	-0,040	0,408	-0,035	0,468

		Gesamt-monozyten [Zellen / $\mu$ l]		Klassische Monozyten [Zellen / $\mu$ l]		Intermediäre Monozyten [Zellen / $\mu$ l]		Nicht-klassische Monozyten [Zellen / $\mu$ l]	
		r	p	r	p	r	p	r	p
	HDL-Cholesterin	-0,084	0,079	-0,063	0,186	-0,123	<b>0,010</b>	-0,125	<b>0,009</b>
	Triglyceride	0,049	0,303	0,034	0,475	0,072	0,134	0,095	<b>0,047</b>
<b>DIAL HOMe (Dialyse-Patienten) n = 44</b>	BMI	0,280	0,069	0,253	0,101	0,132	0,399	0,187	0,229
	eGFR	*	*	*	*	*	*	*	*
	Gesamtcholesterin	*	*	*	*	*	*	*	*
	HDL-Cholesterin	*	*	*	*	*	*	*	*
	Triglyceride	*	*	*	*	*	*	*	*
<b>HOMe Alone (TX-Patienten) n = 159</b>	BMI	-0,125	0,124	-0,149	0,065	-0,106	0,189	0,218	<b>0,007</b>
	eGFR	-0,062	0,447	-0,066	0,415	-0,147	0,069	0,024	0,769
	Gesamtcholesterin	0,064	0,434	0,096	0,240	-0,062	0,449	-0,072	0,376
	HDL-Cholesterin	0,107	0,192	0,124	0,130	0,099	0,230	-0,106	0,198
	Triglyceride	0,026	0,753	0,037	0,649	-0,068	0,404	-0,036	0,660

*r = Korrelationskoeffizient; p = Signifikanzniveau; KHK = Koronare Herzkrankheit; CKD = chronische Nierenerkrankung ("chronic kidney disease"); TX-Patient = Nierentransplantierter Patient; BMI = Body-Mass-Index; eGFR = geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate; HDL = high-density Lipoprotein*

*\* Diese Werte wurden nicht erfasst*

## **5.5 Einfluss immunsuppressiver Medikamente auf die Verteilung der Monozytensubpopulationen**

Aufgrund der hohen kardiovaskulären Morbidität und Mortalität nierentransplantierter Patienten und der zentralen Bedeutung intermediärer Monozyten in der Atherogenese wurde im Rahmen der HOME Alone Studie der potentielle Einfluss immunsuppressiver Medikamente auf die Verteilung der Monozytensubpopulationen bei nierentransplantierten Patienten untersucht. Hierbei wird zunächst der Einfluss von Steroiden, nachfolgend der Einfluss von mTOR-Inhibitoren, auf die Verteilung der Monozytensubpopulationen bei nierentransplantierten Patienten diskutiert.

### **5.5.1 Einfluss von Steroiden auf die Monozytensubpopulationen**

Obgleich mehrere Arbeiten den Einfluss von Steroiden auf klassische und CD16-positive Monozyten untersuchten, wurde innerhalb der CD16-positiven Monozyten zumeist nicht zwischen intermediären und nicht-klassischen Monozyten differenziert. Zudem wurden in bisherigen Arbeiten häufig nicht die absoluten Zellzahlen (Zellen /  $\mu\text{l}$ ), sondern lediglich die relativen Zellzahlen der Monozytensubpopulationen berichtet.

So zeigten Fingerle-Rowson et al. an einer kleinen Kohorte von 10 Patienten mit Multipler Sklerose und 3 gesunden Probanden, dass nach Einnahme hoher Steroiddosen die absolute Zellzahl der Gesamt- und klassischen Monozyten ansteigt und die der CD16-positiven Monozyten abnimmt (48). Auch Scherberich et al. wiesen sowohl bei Patienten mit akuter Vaskulitis (176) als auch bei Patienten mit entzündlichen und septischen Komplikationen (174) nach, dass die relative Zellzahl CD16-positiver Monozyten unter Steroidtherapie zunächst minimiert wird, jedoch während Infektionen oder nicht infektiösen entzündlichen Komplikationen erneut ansteigt (176).

2003 bestätigten Dayyani et al. an einer Kohorte gesunder Männer, dass unter Einfluss hoher Steroiddosen die absolute Zellzahl klassischer Monozyten steigt, wogegen sowohl die absolute als auch die relative Zellzahl CD16-positiver Monozyten innerhalb von 5 Tagen um 95 % des Ausgangswertes sinkt (35). Hierbei wies die Arbeitsgruppe *in vitro* nach, dass Steroide über Caspase-abhängige Signalwege zur Apoptose von CD16-positiven Monozyten führen (35). Die hohe Sensitivität der CD16-positiven Monozyten gegenüber Steroiden

erklärten sie mit der vermehrten Expression von Glukokortikoid-Rezeptoren auf ihrer Oberfläche, welche CD16-positive Zellen anfälliger für Apoptose mache als klassische Monozyten (35).

Es folgten Untersuchungen zum Einfluss von Steroiden auf die Verteilung der Monozytensubpopulationen bei nierentransplantierten Patienten. Hierbei wiesen Ulrich et al. nach, dass nierentransplantierte Patienten mit Steroid-Einnahme eine signifikant niedrigere relative Zellzahl CD16-positiver Monozyten besitzen als transplantierte Patienten ohne Steroid-Einnahme, wobei diese Differenz nach separater Messung von intermediären und nicht-klassischen Monozyten alleine auf die Verminderung der relativen Zellzahl nicht-klassischer Monozyten bei Steroid-Einnahme zurückzuführen ist (194). Sie konnten auch zeigen, dass die Initiierung einer Steroidtherapie, welche am Operationstag 750 mg Methylprednisolon umfasste und innerhalb der ersten 90 Tage nach Transplantation graduell auf 2 – 4 mg gesenkt wurde, zu einer während des gesamten Untersuchungsintervalls signifikanten Reduktion des prozentualen Anteils nicht-klassischer Monozyten im Vergleich zu der präoperativen Verteilung von Monozytensubpopulationen führte (194).

Erste Untersuchungen zum Einfluss von Steroiden auf die Verteilung der Monozytensubpopulationen wurden mittels Hochdosis-Steroidtherapien (250 – 500 mg) durchgeführt (48, 35). Weitere Untersuchungen von Schmidt et al. gaben erste Hinweise, dass Steroide zeit- und dosisabhängig eine Apoptose humaner Monozyten auslösen (178). Auch Heimbeck et al. bestätigten den dosisabhängigen Effekt von Steroiden auf die Monozytensubpopulationen, indem sie 6 Tage lang entweder 500, 90-45 oder 40 mg Prednisolon täglich verabreichten und dabei sehen konnten, dass auch in niedrigeren Dosen die absolute Zellzahl CD16-positiver Zellen verringert werden kann (69). Ulrich et al. dagegen berichten, dass im Langzeitverlauf bei sowohl hohen (750 mg) als auch sehr niedrigen Steroiddosen (2 - 4 mg) die Zellzahlen der nicht-klassischen Monozyten erwartungsgemäß sinken, die Zellzahlen der intermediären Monozyten jedoch unverändert bleiben (194). Die Tatsache, dass bei Ulrich et al. die relative Zellzahl intermediärer Monozyten unter Steroidtherapie nicht signifikant verändert wurde, aber die absolute Zellzahl intermediärer Monozyten im Rahmen der HOME Alone Studie höher war, kann durch die unterschiedliche Angabe der Zellzahlen erklärt werden.

Eine steroidfreie Immunsuppression, welche aufgrund der belastenden Nebenwirkungen von Steroiden immer öfter bei nierentransplantierten Patienten in Erwägung gezogen wird, erscheint somit hinsichtlich des Einflusses auf die Verteilung der Monozytensubpopulationen

mit Reduktion der intermediären Monozyten vorteilhaft. Die klinische Relevanz dieses Befundes muss jedoch zunächst in prospektiven Studien untersucht werden.

### **5.5.2 Einfluss von mTOR-Inhibitoren auf die Monozytensubpopulationen**

Präliminare Daten zeigen Auswirkungen von mTOR-Inhibitoren auf die Monozytenfunktion auf, welche in Tabelle 16 zusammenfassend dargestellt sind. Dabei konnten experimentelle Arbeiten sowohl pro- als auch anti-inflammatorische monozytäre Effekte nachweisen (215, 21, 123); allerdings berücksichtigten diese Untersuchungen zumeist nicht die Monozytenheterogenität.

Vor dem Hintergrund einer erhöhten Sekretion proinflammatorischer Zytokine durch Monozyten nach Stimulation mit mTOR-Inhibitoren postulierten wir, dass Patienten unter Einnahme von mTOR-Inhibitoren vermehrt intermediäre Monozyten aufweisen.

Entgegen unserer Hypothese unterschieden sich in unserer HOME Alone Studie die Zellzahlen der Gesamtmonozyten und der Monozytensubpopulationen zwischen nierentransplantierten Patienten mit und ohne Einnahme von mTOR-Inhibitoren nicht.

Tabelle 16: Potentielle pro- und anti-inflammatorische Auswirkungen von mTOR-Inhibitoren auf Monozyten und Makrophagen

<b>Potentiell proinflammatorische Effekte von mTOR-Inhibitoren auf Monozyten und Makrophagen</b>	<b>Potentiell anti-inflammatorische Effekte von mTOR-Inhibitoren auf Monozyten und Makrophagen</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Hochregulierung proinflammatorischer Signalkaskaden (RAS-Signalweg, Zytokin- und Chemokin-Signalwege, MAPK-Signalweg) (21)</li> <li>➤ TLR-induzierte Aktivierung des proinflammatorischen Transkriptionsfaktors NF-kB (166, 135, 64)</li> <li>➤ Aktivierung des Transkriptionsfaktors STAT3 (209)</li> <li>➤ Vermehrte Sekretion proinflammatorischer Zytokine (IL-12, IL-6, IL-23 und TNF<math>\alpha</math>) (209, 25, 191)</li> <li>➤ Verminderte Sekretion anti-inflammatorischer Zytokine (IL-10) (209)</li> <li>➤ Vermehrte Bildung proinflammatorischer Chemokine (MCP-1, MCP-5, Rantes) (116)</li> <li>➤ Aufhebung der Steroid-induzierten Hemmung der NF-kB- und JNK-Aktivität (210, 211)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Verminderte Lipidakkumulation in Makrophagen durch Hochregulierung von Efflux-Genen (ABCA1) und Herunterregulierung von Influx-Genen (Scavenger-Rezeptoren der Klasse A) (117)</li> <li>➤ Verminderte Expression des proinflammatorischen Chemokins MCP-1 in der Arterienwand mit präsumtiv verminderter Adhäsion und Migration von Monozyten (168)</li> <li>➤ Verminderte Expression von Hyaluronsäure in glatten Muskelzellen der Arterienwand mit präsumtiv verminderter Adhäsion von Monozyten (59)</li> <li>➤ Verminderte Chemotaxis von Monozyten (13)</li> <li>➤ Induktion von Autophagozytose von Makrophagen innerhalb der Plaques → Stabilisierung der Plaques (200, 115)</li> <li>➤ Verminderter Makrophagengehalt innerhalb atherosklerotischer Läsionen mit verminderter IMT (13)</li> </ul>

## **5.6 Limitationen**

Bei der vorgelegten Dissertationsschrift handelt es sich um eine erste Querschnittsanalyse der epidemiologischen HOME Alone Studie. Wie in jeder anderen epidemiologischen Studie erlaubt das Studiendesign somit nur das Aufzeigen von Assoziationen, aber nicht von Kausalitäten. Da die Dissertationsschrift auf eine Querschnittsanalyse fokussiert, können keine Aussagen zur Assoziation zwischen immunologischen Parametern und Transplantat- oder Patientenüberleben getroffen werden. Zudem kann nicht direkt aufgezeigt werden, in welchem Ausmaße Änderungen der Medikation – zum Beispiel die Konversion von Calcineurininhibitoren auf mTOR-Inhibitoren – die Zellzahlen der Monozytensubpopulationen beeinflussen.

Da das Transplantationszentrum Homburg aus geographischen Gründen einen relativ kleinen Einzugsbereich hat, ist die Studiengröße mit 159 Patienten relativ gering. Insbesondere resultieren nach Stratifikation für die Einnahme von immunsuppressiven Wirkklassen relativ kleine Gruppen von Patienten. So nahmen nur 27 Patienten (17 % der Gesamtkohorte) mTOR-Inhibitoren ein, sodass eine weitere Differenzierung der verschiedenen mTOR-Inhibitoren (Sirolimus und Everolimus) nicht möglich war und die Ergebnisse der Patienten unter Azathioprin-Einnahme (4 Patienten, 2,5 % der Gesamtkohorte) nicht repräsentativ waren. Zudem wurden in der HOME Alone Studie überwiegend Kaukasier rekrutiert, wodurch die Ergebnisse nicht unkritisch auf andere Ethnizitäten übertragen werden können.

## **5.7 Zusammenfassung und Ausblick**

In der vorgelegten Dissertationsarbeit konnte aufgezeigt werden, dass nierentransplantierte Patienten unter Steroideinnahme mehr klassische und intermediäre Monozyten aufweisen als Patienten ohne Steroideinnahme, während die Anzahl der nicht-klassischen Monozyten vermindert ist. Insbesondere der Anstieg von Zellzahlen der proinflammatorischen intermediären Monozyten erlangt hier eine große Bedeutung, da sie präsumtiv zur Erhöhung der kardiovaskulären Morbidität und Mortalität nierentransplantierte Patienten beitragen. Diese epidemiologische Arbeit steht im Einklang mit andern – sowohl experimentellen als auch klinischen – Daten, welche aufzeigten, dass unter Steroideinfluss die Zellzahlen der Gesamt- und klassischen Monozyten erhöht und die der nicht-klassischen Monozyten erniedrigt sind. Bisherige Arbeiten fokussierten jedoch nicht auf Zellzahlen

proinflammatorischer intermediärer Monozyten, wodurch unsere Daten die Erkenntnisse anderer Arbeiten erweitern.

Entgegen der Hypothese, dass mTOR-Inhibitoren die Zellzahl intermediärer Monozyten erhöhen, zeigen die Daten der HOME Alone Studie, dass nierentransplantierte Patienten unter mTOR-Inhibitor-Einnahme bei tendenziell höheren Zellzahlen nicht-klassischer Monozyten ähnliche Zellzahlen klassischer und intermediärer Monozyten aufweisen als Patienten ohne mTOR-Inhibitor-Einnahme.

Prospektive klinische Studien müssen nachweisen, ob insbesondere die Zellzahlerhöhung intermediärer Monozyten unter Steroideinnahme tatsächlich in einer Steigerung der kardiovaskulären Morbidität und Mortalität nierentransplantierter Patienten resultiert. Ein solcher direkter Nachweis der klinischen Relevanz unserer Beobachtungen verdeutlichte die Notwendigkeit, nebenwirkungsärmere immunsuppressive Substanzen und Medikamentenkombinationen zu entwickeln, um ein rascheres Ausschleichen der Steroidmedikation nach allogener Nierentransplantation zu erlauben.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Aakhus, S, Dahl, K & Wideroe, TE: Cardiovascular disease in stable renal transplant patients in Norway: morbidity and mortality during a 5-yr follow-up. *Clin Transplant*, 18: 596-604, 2004.
2. Aboyans, V, Criqui, MH, Abraham, P, Allison, MA, Creager, MA, Diehm, C, Fowkes, FG, Hiatt, WR, Jonsson, B, Lacroix, P, Marin, B, McDermott, MM, Norgren, L, Pande, RL, Preux, PM, Stoffers, HE & Treat-Jacobson, D: Measurement and interpretation of the ankle-brachial index: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 126: 2890-909, 2012.
3. Agarwal, PK, Hellemons, ME, Zelle, DM, van Ree, RM, van den Born, J, van der Heide, JJ, Gans, RO, van Son, WJ, Navis, G & Bakker, SJ: Smoking is a risk factor for graft failure and mortality after renal transplantation. *Am J Nephrol*, 34: 26-31, 2011.
4. Aktas, A: Transplanted kidney function evaluation. *Semin Nucl Med*, 44: 129-45, 2014.
5. Al-Mansour, Z, Nelson, BP & Evens, AM: Post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD): risk factors, diagnosis, and current treatment strategies. *Curr Hematol Malig Rep*, 8: 173-83, 2013.
6. Alamanda, V, Singh, S, Lawrence, NJ & Chellappan, SP: Nicotine-mediated induction of E-selectin in aortic endothelial cells requires Src kinase and E2F1 transcriptional activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 418: 56-61, 2012.
7. Alvarez, A, Cerda-Nicolas, M, Naim Abu Nabah, Y, Mata, M, Issekutz, AC, Panes, J, Lobb, RR & Sanz, MJ: Direct evidence of leukocyte adhesion in arterioles by angiotensin II. *Blood*, 104: 402-8, 2004.
8. Ancuta, P, Rao, R, Moses, A, Mehle, A, Shaw, SK, Luscinskas, FW & Gabuzda, D: Fractalkine preferentially mediates arrest and migration of CD16+ monocytes. *J Exp Med*, 197: 1701-7, 2003.
9. Andoh, TF & Bennett, WM: Chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 7: 265-70, 1998.
10. Arend, SM, Mallat, MJ, Westendorp, RJ, van der Woude, FJ & van Es, LA: Patient survival after renal transplantation; more than 25 years follow-up. *Nephrol Dial Transplant*, 12: 1672-9, 1997.

11. Auffray, C, Sieweke, MH & Geissmann, F: Blood monocytes: development, heterogeneity, and relationship with dendritic cells. *Annu Rev Immunol*, 27: 669-92, 2009.
12. Augustine, JJ & Hricik, DE: Steroid sparing in kidney transplantation: changing paradigms, improving outcomes, and remaining questions. *Clin J Am Soc Nephrol*, 1: 1080-9, 2006.
13. Baetta, R, Granata, A, Canavesi, M, Ferri, N, Arnaboldi, L, Bellosta, S, Pfister, P & Corsini, A: Everolimus inhibits monocyte/macrophage migration in vitro and their accumulation in carotid lesions of cholesterol-fed rabbits. *J Pharmacol Exp Ther*, 328: 419-25, 2009.
14. Barlic, J, Zhang, Y & Murphy, PM: Atherogenic lipids induce adhesion of human coronary artery smooth muscle cells to macrophages by up-regulating chemokine CX3CL1 on smooth muscle cells in a TNFalpha-NFkappaB-dependent manner. *J Biol Chem*, 282: 19167-76, 2007.
15. Beimler, J, Morath, C & Zeier, M: [Modern immunosuppression after solid organ transplantation]. *Internist (Berl)*, 55: 212-22, 2014.
16. Belge, KU, Dayyani, F, Horelt, A, Siedlar, M, Frankenberger, M, Frankenberger, B, Espevik, T & Ziegler-Heitbrock, L: The proinflammatory CD14+CD16+DR++ monocytes are a major source of TNF. *J Immunol*, 168: 3536-42, 2002.
17. Boots, JM, Christiaans, MH & van Hooff, JP: Effect of immunosuppressive agents on long-term survival of renal transplant recipients: focus on the cardiovascular risk. *Drugs*, 64: 2047-73, 2004.
18. Brauner, A, Lu, Y, Hallden, G, Hylander, B & Lundahl, J: Difference in the blood monocyte phenotype between uremic patients and healthy controls: its relation to monocyte differentiation into macrophages in the peritoneal cavity. *Inflammation*, 22: 55-66, 1998.
19. Braunersreuther, V, Zerneck, A, Arnaud, C, Liehn, EA, Steffens, S, Shagdarsuren, E, Bidzhekov, K, Burger, F, Pelli, G, Luckow, B, Mach, F & Weber, C: Ccr5 but not Ccr1 deficiency reduces development of diet-induced atherosclerosis in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 27: 373-9, 2007.
20. Brennan, DC: Cytomegalovirus in renal transplantation. *J Am Soc Nephrol*, 12: 848-55, 2001.
21. Brouard, S, Puig-Pey, I, Lozano, JJ, Pallier, A, Braud, C, Giral, M, Guillet, M, Londono, MC, Oppenheimer, F, Campistol, JM, Soulillou, JP & Sanchez-Fueyo, A:

- Comparative transcriptional and phenotypic peripheral blood analysis of kidney recipients under cyclosporin A or sirolimus monotherapy. *Am J Transplant*, 10: 2604-14, 2010.
22. Buchler, M, Caillard, S, Barbier, S, Thervet, E, Toupance, O, Mazouz, H, Hurault de Ligny, B, Le Meur, Y, Thierry, A, Villemain, F, Heng, AE, Moulin, B, Morin, MP, Noel, C & Lebranchu, Y: Sirolimus versus cyclosporine in kidney recipients receiving thymoglobulin, mycophenolate mofetil and a 6-month course of steroids. *Am J Transplant*, 7: 2522-31, 2007.
  23. Budde, K, Becker, T, Arns, W, Sommerer, C, Reinke, P, Eisenberger, U, Kramer, S, Fischer, W, Gschaidmeier, H & Pietruck, F: Everolimus-based, calcineurin-inhibitor-free regimen in recipients of de-novo kidney transplants: an open-label, randomised, controlled trial. *Lancet*, 377: 837-47, 2011.
  24. Budde, K, Giessing, M, Liefeldt, L, Neumayer, HH & Glander, P: [Modern immunosuppression following renal transplantation. Standard or tailor made?]. *Urologe A*, 45: 9-17, 2006.
  25. Buron, F, Malvezzi, P, Villar, E, Chauvet, C, Janbon, B, Denis, L, Brunet, M, Daoud, S, Cahen, R, Pouteil-Noble, C, Gagnieu, MC, Bienvenu, J, Bayle, F, Morelon, E & Thauinat, O: Profiling sirolimus-induced inflammatory syndrome: a prospective tricentric observational study. *PLoS One*, 8: e53078, 2013.
  26. Capildeo, R, Haberman, S & Rose, FC: The definition and classification of stroke. A new approach. *Q J Med*, 47: 177-96, 1978.
  27. Carracedo, J, Merino, A, Nogueras, S, Carretero, D, Berdud, I, Ramirez, R, Tetta, C, Rodriguez, M, Martin-Malo, A & Aljama, P: On-line hemodiafiltration reduces the proinflammatory CD14+CD16+ monocyte-derived dendritic cells: A prospective, crossover study. *J Am Soc Nephrol*, 17: 2315-21, 2006.
  28. Chapman, CM, Beilby, JP, McQuillan, BM, Thompson, PL & Hung, J: Monocyte count, but not C-reactive protein or interleukin-6, is an independent risk marker for subclinical carotid atherosclerosis. *Stroke*, 35: 1619-24, 2004.
  29. Cortazar, F, Molnar, MZ, Isakova, T, Czira, ME, Kovesdy, CP, Roth, D, Mucsi, I & Wolf, M: Clinical outcomes in kidney transplant recipients receiving long-term therapy with inhibitors of the mammalian target of rapamycin. *Am J Transplant*, 12: 379-87, 2012.
  30. Cottam, DR, Schaefer, PA, Shaftan, GW, Velcu, L & Angus, LD: Effect of surgically-induced weight loss on leukocyte indicators of chronic inflammation in morbid obesity. *Obes Surg*, 12: 335-42, 2002.

31. Courivaud, C, Kazory, A, Simula-Faivre, D, Chalopin, JM & Ducloux, D: Metabolic syndrome and atherosclerotic events in renal transplant recipients. *Transplantation*, 83: 1577-81, 2007.
32. Cros, J, Cagnard, N, Woollard, K, Patey, N, Zhang, SY, Senechal, B, Puel, A, Biswas, SK, Moshous, D, Picard, C, Jais, JP, D'Cruz, D, Casanova, JL, Trouillet, C & Geissmann, F: Human CD14<sup>dim</sup> monocytes patrol and sense nucleic acids and viruses via TLR7 and TLR8 receptors. *Immunity*, 33: 375-86, 2010.
33. Curtiss, LK & Tobias, PS: Emerging role of Toll-like receptors in atherosclerosis. *J Lipid Res*, 50 Suppl: S340-5, 2009.
34. Davignon, J & Ganz, P: Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*, 109: III27-32, 2004.
35. Dayyani, F, Belge, KU, Frankenberger, M, Mack, M, Berki, T & Ziegler-Heitbrock, L: Mechanism of glucocorticoid-induced depletion of human CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> monocytes. *J Leukoc Biol*, 74: 33-9, 2003.
36. de Jager, DJ, Grootendorst, DC, Jager, KJ, van Dijk, PC, Tomas, LM, Ansell, D, Collart, F, Finne, P, Heaf, JG, De Meester, J, Wetzels, JF, Rosendaal, FR & Dekker, FW: Cardiovascular and noncardiovascular mortality among patients starting dialysis. *JAMA*, 302: 1782-9, 2009.
37. Dragu, R, Khoury, S, Zuckerman, R, Suleiman, M, Mutlak, D, Agmon, Y, Kapeliovich, M, Beyar, R, Markiewicz, W, Hammerman, H & Aronson, D: Predictive value of white blood cell subtypes for long-term outcome following myocardial infarction. *Atherosclerosis*, 196: 405-12, 2008.
38. Dreikorn, K: Geschichte und Entwicklung der klinischen Nierentransplantation in Deutschland aus urologischer Sicht. *Deutsche Gesellschaft für Urologie*: 151-159, 2007.
39. Ducloux, D, Kazory, A & Chalopin, JM: Predicting coronary heart disease in renal transplant recipients: a prospective study. *Kidney Int*, 66: 441-7, 2004.
40. Duewell, P, Kono, H, Rayner, KJ, Sirois, CM, Vladimer, G, Bauernfeind, FG, Abela, GS, Franchi, L, Nunez, G, Schnurr, M, Espevik, T, Lien, E, Fitzgerald, KA, Rock, KL, Moore, KJ, Wright, SD, Hornung, V & Latz, E: NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature*, 464: 1357-61, 2010.
41. Edwards, EB, Bennett, LE & Cecka, JM: Effect of HLA matching on the relative risk of mortality for kidney recipients: a comparison of the mortality risk after transplant to the mortality risk of remaining on the waiting list. *Transplantation*, 64: 1274-7, 1997.

42. Ekberg, H, Tedesco-Silva, H, Demirbas, A, Vitko, S, Nashan, B, Gurkan, A, Margreiter, R, Hugo, C, Grinyo, JM, Frei, U, Vanrenterghem, Y, Daloze, P & Halloran, PF: Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med*, 357: 2562-75, 2007.
43. El-Faramawi, M, Rohr, N & Jespersen, B: Steroid-free immunosuppression after renal transplantation-long-term experience from a single centre. *Nephrol Dial Transplant*, 21: 1966-73, 2006.
44. Evans, RW, Manninen, DL, Garrison, LP, Jr., Hart, LG, Blagg, CR, Gutman, RA, Hull, AR & Lowrie, EG: The quality of life of patients with end-stage renal disease. *N Engl J Med*, 312: 553-9, 1985.
45. Favi, E, Salerno, MP, Romagnoli, J, Castagneto, M & Citterio, F: Significant improvement in patient survival after renal transplantation in the last decade. *Transplant Proc*, 43: 285-7, 2011.
46. Fellstrom, B, Jardine, AG, Soveri, I, Cole, E, Gronhagen-Riska, C, Neumayer, HH, Maes, B, Gimpelewicz, C & Holdaas, H: Renal dysfunction as a risk factor for mortality and cardiovascular disease in renal transplantation: experience from the Assessment of Lescol in Renal Transplantation trial. *Transplantation*, 79: 1160-3, 2005.
47. Fernandez-Fresnedo, G, Escallada, R, Rodrigo, E, De Francisco, AL, Cotorruelo, JG, Sanz De Castro, S, Zubimendi, JA, Ruiz, JC & Arias, M: The risk of cardiovascular disease associated with proteinuria in renal transplant patients. *Transplantation*, 73: 1345-8, 2002.
48. Fingerle-Rowson, G, Angstwurm, M, Andreesen, R & Ziegler-Heitbrock, HW: Selective depletion of CD14+ CD16+ monocytes by glucocorticoid therapy. *Clin Exp Immunol*, 112: 501-6, 1998.
49. Fingerle, G, Pforte, A, Passlick, B, Blumenstein, M, Strobel, M & Ziegler-Heitbrock, HW: The novel subset of CD14+/CD16+ blood monocytes is expanded in sepsis patients. *Blood*, 82: 3170-6, 1993.
50. First, MR: Clinical application of immunosuppressive agents in renal transplantation. *Surg Clin North Am*, 78: 61-76, 1998.
51. Flechner, SM, Glyda, M, Cockfield, S, Grinyo, J, Legendre, C, Russ, G, Steinberg, S, Wissing, KM & Tai, SS: The ORION study: comparison of two sirolimus-based regimens versus tacrolimus and mycophenolate mofetil in renal allograft recipients. *Am J Transplant*, 11: 1633-44, 2011.

52. Frankenberger, M, Sternsdorf, T, Pechumer, H, Pforte, A & Ziegler-Heitbrock, HW: Differential cytokine expression in human blood monocyte subpopulations: a polymerase chain reaction analysis. *Blood*, 87: 373-7, 1996.
53. Fuster, V, Moreno, PR, Fayad, ZA, Corti, R & Badimon, JJ: Atherothrombosis and high-risk plaque: part I: evolving concepts. *J Am Coll Cardiol*, 46: 937-54, 2005.
54. Ghattas, A, Griffiths, HR, Devitt, A, Lip, GY & Shantsila, E: Monocytes in coronary artery disease and atherosclerosis: where are we now? *J Am Coll Cardiol*, 62: 1541-51, 2013.
55. Gill, JS & Pereira, BJ: Death in the first year after kidney transplantation: implications for patients on the transplant waiting list. *Transplantation*, 75: 113-7, 2003.
56. Gillum, RF, Mussolino, ME & Madans, JH: Counts of neutrophils, lymphocytes, and monocytes, cause-specific mortality and coronary heart disease: the NHANES-I epidemiologic follow-up study. *Ann Epidemiol*, 15: 266-71, 2005.
57. Gonwa, T, Mendez, R, Yang, HC, Weinstein, S, Jensik, S & Steinberg, S: Randomized trial of tacrolimus in combination with sirolimus or mycophenolate mofetil in kidney transplantation: results at 6 months. *Transplantation*, 75: 1213-20, 2003.
58. Gonzalez, P, Alvarez, R, Batalla, A, Reguero, JR, Alvarez, V, Astudillo, A, Cubero, GI, Cortina, A & Coto, E: Genetic variation at the chemokine receptors CCR5/CCR2 in myocardial infarction. *Genes Immun*, 2: 191-5, 2001.
59. Goueffic, Y, Potter-Perigo, S, Chan, CK, Johnson, PY, Braun, K, Evanko, SP & Wight, TN: Sirolimus blocks the accumulation of hyaluronan (HA) by arterial smooth muscle cells and reduces monocyte adhesion to the ECM. *Atherosclerosis*, 195: 23-30, 2007.
60. Greaves, DR & Gordon, S: The macrophage scavenger receptor at 30 years of age: current knowledge and future challenges. *J Lipid Res*, 50 Suppl: S282-6, 2009.
61. Grenon, SM, Gagnon, J & Hsiang, Y: Video in clinical medicine. Ankle-brachial index for assessment of peripheral arterial disease. *N Engl J Med*, 361: e40, 2009.
62. Grip, O, Bredberg, A, Lindgren, S & Henriksson, G: Increased subpopulations of CD16(+) and CD56(+) blood monocytes in patients with active Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*, 13: 566-72, 2007.
63. Hahn, AW, Jonas, U, Buhler, FR & Resink, TJ: Activation of human peripheral monocytes by angiotensin II. *FEBS Lett*, 347: 178-80, 1994.
64. Haidinger, M, Poglitsch, M, Geyeregger, R, Kasturi, S, Zeyda, M, Zlabinger, GJ, Pulendran, B, Horl, WH, Saemann, MD & Weichhart, T: A versatile role of

- mammalian target of rapamycin in human dendritic cell function and differentiation. *J Immunol*, 185: 3919-31, 2010.
65. Halloran, PF: Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med*, 351: 2715-29, 2004.
66. Hansson, GK & Hermansson, A: The immune system in atherosclerosis. *Nat Immunol*, 12: 204-12, 2011.
67. Hartog, JW, de Vries, AP, Bakker, SJ, Graaff, R, van Son, WJ, van der Heide, JJ, Gans, RO, Wolffenbittel, BH, de Jong, PE & Smit, AJ: Risk factors for chronic transplant dysfunction and cardiovascular disease are related to accumulation of advanced glycation end-products in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant*, 21: 2263-9, 2006.
68. Hartono, C, Muthukumar, T & Suthanthiran, M: Immunosuppressive drug therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 3: a015487, 2013.
69. Heimbeck, I, Hofer, TP, Eder, C, Wright, AK, Frankenberger, M, Marei, A, Boghdadi, G, Scherberich, J & Ziegler-Heitbrock, L: Standardized single-platform assay for human monocyte subpopulations: Lower CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup> monocytes in females. *Cytometry A*, 77: 823-30, 2010.
70. Heine, GH, Ulrich, C, Seibert, E, Seiler, S, Marell, J, Reichart, B, Krause, M, Schlitt, A, Kohler, H & Girndt, M: CD14<sup>(++)</sup>CD16<sup>+</sup> monocytes but not total monocyte numbers predict cardiovascular events in dialysis patients. *Kidney Int*, 73: 622-9, 2008.
71. Herzog, CA, Asinger, RW, Berger, AK, Charytan, DM, Diez, J, Hart, RG, Eckardt, KU, Kasiske, BL, McCullough, PA, Passman, RS, DeLoach, SS, Pun, PH & Ritz, E: Cardiovascular disease in chronic kidney disease. A clinical update from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int*, 80: 572-86, 2011.
72. Hilbrands, LB, Hoitsma, AJ & Koene, RA: Medication compliance after renal transplantation. *Transplantation*, 60: 914-20, 1995.
73. Hilgendorf, I & Swirski, FK: Making a difference: monocyte heterogeneity in cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep*, 14: 450-9, 2012.
74. Hirsch, HH, Knowles, W, Dickenmann, M, Passweg, J, Klimkait, T, Mihatsch, MJ & Steiger, J: Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. *N Engl J Med*, 347: 488-96, 2002.
75. Hjelmessaeth, J, Midtvedt, K, Aakhus, S & Hartmann, A: [Cardiovascular disease after kidney transplantation]. *Tidsskr Nor Laegeforen*, 119: 3784-8, 1999.

76. Holdaas, H, Fellstrom, B, Jardine, AG, Holme, I, Nyberg, G, Fauchald, P, Gronhagen-Riska, C, Madsen, S, Neumayer, HH, Cole, E, Maes, B, Ambuhl, P, Olsson, AG, Hartmann, A, Solbu, DO & Pedersen, TR: Effect of fluvastatin on cardiac outcomes in renal transplant recipients: a multicentre, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet*, 361: 2024-31, 2003.
77. Horelt, A, Belge, KU, Steppich, B, Prinz, J & Ziegler-Heitbrock, L: The CD14+CD16+ monocytes in erysipelas are expanded and show reduced cytokine production. *Eur J Immunol*, 32: 1319-27, 2002.
78. Horne, BD, Anderson, JL, John, JM, Weaver, A, Bair, TL, Jensen, KR, Renlund, DG & Muhlestein, JB: Which white blood cell subtypes predict increased cardiovascular risk? *J Am Coll Cardiol*, 45: 1638-43, 2005.
79. <http://www.dso.de/organspende-und-transplantation/warteliste-und-vermittlung.html>.
80. [http://www.dso.de/uploads/tx\\_dsodl/DSO\\_JB\\_D\\_2012\\_e.pdf](http://www.dso.de/uploads/tx_dsodl/DSO_JB_D_2012_e.pdf).
81. <http://www.eurotransplant.org/cms/index.php?page=monthllystats>.
82. [http://www.kdigo.org/clinical\\_practice\\_guidelines/Lipids/KDIGO%20Lipid%20Management%20Guideline%202013.pdf](http://www.kdigo.org/clinical_practice_guidelines/Lipids/KDIGO%20Lipid%20Management%20Guideline%202013.pdf).
83. Hurst, FP, Altieri, M, Patel, PP, Jindal, TR, Guy, SR, Sidawy, AN, Agodoa, LY, Abbott, KC & Jindal, RM: Effect of smoking on kidney transplant outcomes: analysis of the United States Renal Data System. *Transplantation*, 92: 1101-7, 2011.
84. Imanishi, T, Ikejima, H, Tsujioka, H, Kuroi, A, Ishibashi, K, Komukai, K, Tanimoto, T, Ino, Y, Takeshita, T & Akasaka, T: Association of monocyte subset counts with coronary fibrous cap thickness in patients with unstable angina pectoris. *Atherosclerosis*, 212: 628-35, 2010.
85. Israni, AK, Snyder, JJ, Skeans, MA, Peng, Y, Maclean, JR, Weinhandl, ED & Kasiske, BL: Predicting coronary heart disease after kidney transplantation: Patient Outcomes in Renal Transplantation (PORT) Study. *Am J Transplant*, 10: 338-53, 2010.
86. Jaipersad, AS, Lip, GY, Silverman, S & Shantsila, E: The role of monocytes in angiogenesis and atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*, 63: 1-11, 2014.
87. Jardine, AG, Fellstrom, B, Logan, JO, Cole, E, Nyberg, G, Gronhagen-Riska, C, Madsen, S, Neumayer, HH, Maes, B, Ambuhl, P, Olsson, AG, Pedersen, T & Holdaas, H: Cardiovascular risk and renal transplantation: post hoc analyses of the Assessment of Lescol in Renal Transplantation (ALERT) Study. *Am J Kidney Dis*, 46: 529-36, 2005.

88. Jha, V, Garcia-Garcia, G, Iseki, K, Li, Z, Naicker, S, Plattner, B, Saran, R, Wang, AY & Yang, CW: Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *Lancet*, 382: 260-72, 2013.
89. Johnsen, SH, Fosse, E, Joakimsen, O, Mathiesen, EB, Stensland-Bugge, E, Njolstad, I & Arnesen, E: Monocyte count is a predictor of novel plaque formation: a 7-year follow-up study of 2610 persons without carotid plaque at baseline the Tromso Study. *Stroke*, 36: 715-9, 2005.
90. Kahan, BD: Efficacy of sirolimus compared with azathioprine for reduction of acute renal allograft rejection: a randomised multicentre study. The Rapamune US Study Group. *Lancet*, 356: 194-202, 2000.
91. Kahan, BD: Individuality: the barrier to optimal immunosuppression. *Nat Rev Immunol*, 3: 831-8, 2003.
92. Kaplan, B, Qazi, Y & Wellen, JR: Strategies for the management of adverse events associated with mTOR inhibitors. *Transplant Rev (Orlando)*, 2014.
93. Kashiwagi, M, Imanishi, T, Tsujioka, H, Ikejima, H, Kuroi, A, Ozaki, Y, Ishibashi, K, Komukai, K, Tanimoto, T, Ino, Y, Kitabata, H, Hirata, K & Akasaka, T: Association of monocyte subsets with vulnerability characteristics of coronary plaques as assessed by 64-slice multidetector computed tomography in patients with stable angina pectoris. *Atherosclerosis*, 212: 171-6, 2010.
94. Kasiske, BL, Chakkera, HA & Roel, J: Explained and unexplained ischemic heart disease risk after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol*, 11: 1735-43, 2000.
95. Kasiske, BL & Klinger, D: Cigarette smoking in renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol*, 11: 753-9, 2000.
96. Kasiske, BL, Snyder, JJ, Gilbertson, D & Matas, AJ: Diabetes mellitus after kidney transplantation in the United States. *Am J Transplant*, 3: 178-85, 2003.
97. Katayama, K, Matsubara, T, Fujiwara, M, Koga, M & Furukawa, S: CD14+CD16+ monocyte subpopulation in Kawasaki disease. *Clin Exp Immunol*, 121: 566-70, 2000.
98. Kawanaka, N, Nagake, Y, Yamamura, M & Makino, H: Expression of Fc gamma receptor III (CD16) on monocytes during hemodialysis in patients with chronic renal failure. *Nephron*, 90: 64-71, 2002.
99. Kawanaka, N, Yamamura, M, Aita, T, Morita, Y, Okamoto, A, Kawashima, M, Iwahashi, M, Ueno, A, Ohmoto, Y & Makino, H: CD14+,CD16+ blood monocytes and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 46: 2578-86, 2002.

100. Khwaja, K, Asolati, M, Harmon, J, Melancon, JK, Dunn, T, Gillingham, K, Kandaswamy, R, Humar, A, Gruessner, R, Payne, W, Najarian, J, Dunn, D, Sutherland, D & Matas, AJ: Outcome at 3 years with a prednisone-free maintenance regimen: a single-center experience with 349 kidney transplant recipients. *Am J Transplant*, 4: 980-7, 2004.
101. Kim, JA, Berliner, JA & Nadler, JL: Angiotensin II increases monocyte binding to endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 226: 862-8, 1996.
102. Kirchner, G, Krämer, B & Schlitt, H-J: Immunsuppression nach Nierentransplantation. *UNI-MED*, 1: 50-57, 2007.
103. Knoll, G: Trends in kidney transplantation over the past decade. *Drugs*, 68 Suppl 1: 3-10, 2008.
104. Kramer, BK, Klinger, M, Vitko, S, Glyda, M, Midtvedt, K, Stefoni, S, Citterio, F, Pietruck, F, Squifflet, JP, Segoloni, G, Kruger, B, Sperschneider, H, Banas, B, Backman, L, Weber, M, Carmellini, M, Perner, F, Claesson, K, Marcinkowski, W, Ostrowski, M, Senatorski, G, Nordstrom, J & Salmela, K: Tacrolimus-based, steroid-free regimens in renal transplantation: 3-year follow-up of the ATLAS trial. *Transplantation*, 94: 492-8, 2012.
105. Kunjathoor, VV, Febbraio, M, Podrez, EA, Moore, KJ, Andersson, L, Koehn, S, Rhee, JS, Silverstein, R, Hoff, HF & Freeman, MW: Scavenger receptors class A-I/II and CD36 are the principal receptors responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid loading in macrophages. *J Biol Chem*, 277: 49982-8, 2002.
106. Lamb, KE, Lodhi, S & Meier-Kriesche, HU: Long-term renal allograft survival in the United States: a critical reappraisal. *Am J Transplant*, 11: 450-62, 2011.
107. Laupacis, A, Keown, P, Pus, N, Krueger, H, Ferguson, B, Wong, C & Muirhead, N: A study of the quality of life and cost-utility of renal transplantation. *Kidney Int*, 50: 235-42, 1996.
108. Lebranchu, Y, Thierry, A, Thervet, E, Buchler, M, Etienne, I, Westeel, PF, Hurault de Ligny, B, Moulin, B, Rerolle, JP, Frouget, T, Girardot-Seguin, S & Toupance, O: Efficacy and safety of early cyclosporine conversion to sirolimus with continued MMF-four-year results of the Postconcept study. *Am J Transplant*, 11: 1665-75, 2011.
109. Lebranchu, Y, Thierry, A, Toupance, O, Westeel, PF, Etienne, I, Thervet, E, Moulin, B, Frouget, T, Le Meur, Y, Glotz, D, Heng, AE, Onno, C, Buchler, M, Girardot-Seguin, S & Hurault de Ligny, B: Efficacy on renal function of early conversion from

- cyclosporine to sirolimus 3 months after renal transplantation: concept study. *Am J Transplant*, 9: 1115-23, 2009.
110. Lee, VW & Chapman, JR: Sirolimus: its role in nephrology. *Nephrology (Carlton)*, 10: 606-14, 2005.
111. Libby, P: Inflammation in atherosclerosis. *Nature*, 420: 868-74, 2002.
112. Lindholm, A, Albrechtsen, D, Frodin, L, Tufveson, G, Persson, NH & Lundgren, G: Ischemic heart disease--major cause of death and graft loss after renal transplantation in Scandinavia. *Transplantation*, 60: 451-7, 1995.
113. London, NJ, Farmery, SM, Will, EJ, Davison, AM & Lodge, JP: Risk of neoplasia in renal transplant patients. *Lancet*, 346: 403-6, 1995.
114. MacDonald, AS: A worldwide, phase III, randomized, controlled, safety and efficacy study of a sirolimus/cyclosporine regimen for prevention of acute rejection in recipients of primary mismatched renal allografts. *Transplantation*, 71: 271-80, 2001.
115. Martinet, W, Verheye, S & De Meyer, GR: Everolimus-induced mTOR inhibition selectively depletes macrophages in atherosclerotic plaques by autophagy. *Autophagy*, 3: 241-4, 2007.
116. Martinet, W, Verheye, S, De Meyer, I, Timmermans, JP, Schrijvers, DM, Van Brussel, I, Bult, H & De Meyer, GR: Everolimus triggers cytokine release by macrophages: rationale for stents eluting everolimus and a glucocorticoid. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 32: 1228-35, 2012.
117. Mathis, AS, Jin, S, Friedman, GS, Peng, F, Carl, SM & Knipp, GT: The pharmacodynamic effects of sirolimus and sirolimus-calcineurin inhibitor combinations on macrophage scavenger and nuclear hormone receptors. *J Pharm Sci*, 96: 209-22, 2007.
118. Meier-Kriesche, HU, Baliga, R & Kaplan, B: Decreased renal function is a strong risk factor for cardiovascular death after renal transplantation. *Transplantation*, 75: 1291-5, 2003.
119. Merino, A, Buendia, P, Martin-Malo, A, Aljama, P, Ramirez, R & Carracedo, J: Senescent CD14+CD16+ monocytes exhibit proinflammatory and proatherosclerotic activity. *J Immunol*, 186: 1809-15, 2011.
120. Messa, P, Ponticelli, C & Berardinelli, L: Coming back to dialysis after kidney transplant failure. *Nephrol Dial Transplant*, 23: 2738-42, 2008.
121. Mjornstedt, L, Sorensen, SS, von Zur Muhlen, B, Jespersen, B, Hansen, JM, Bistrup, C, Andersson, H, Gustafsson, B, Undset, LH, Fagertun, H, Solbu, D & Holdaas, H:

- Improved renal function after early conversion from a calcineurin inhibitor to everolimus: a randomized trial in kidney transplantation. *Am J Transplant*, 12: 2744-53, 2012.
122. Montanaro, D, Gropuzzo, M, Tulissi, P, Boscutti, G, Risaliti, A, Baccarani, U, Adani, GL, Sainz, M, Bresadola, F & Mioni, G: [Cardiovascular disease after renal transplantation]. *G Ital Nefrol*, 21 Suppl 26: S53-66, 2004.
123. Moran, CS, Jose, RJ, Moxon, JV, Roomberg, A, Norman, PE, Rush, C, Korner, H & Golledge, J: Everolimus limits aortic aneurysm in the apolipoprotein E-deficient mouse by downregulating C-C chemokine receptor 2 positive monocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 33: 814-21, 2013.
124. Mosig, S, Rennert, K, Krause, S, Kzhyshkowska, J, Neunubel, K, Heller, R & Funke, H: Different functions of monocyte subsets in familial hypercholesterolemia: potential function of CD14+ CD16+ monocytes in detoxification of oxidized LDL. *FASEB J*, 23: 866-74, 2009.
125. Moyer, CF, Sajuthi, D, Tulli, H & Williams, JK: Synthesis of IL-1 alpha and IL-1 beta by arterial cells in atherosclerosis. *Am J Pathol*, 138: 951-60, 1991.
126. Mulay, AV, Hussain, N, Fergusson, D & Knoll, GA: Calcineurin inhibitor withdrawal from sirolimus-based therapy in kidney transplantation: a systematic review of randomized trials. *Am J Transplant*, 5: 1748-56, 2005.
127. Muller, WA: Leukocyte-endothelial-cell interactions in leukocyte transmigration and the inflammatory response. *Trends Immunol*, 24: 327-34, 2003.
128. Muntinghe, FL, Verduijn, M, Zuurman, MW, Grootendorst, DC, Carrero, JJ, Qureshi, AR, Luttrupp, K, Nordfors, L, Lindholm, B, Brandenburg, V, Schalling, M, Stenvinkel, P, Boeschoten, EW, Krediet, RT, Navis, G & Dekker, FW: CCR5 deletion protects against inflammation-associated mortality in dialysis patients. *J Am Soc Nephrol*, 20: 1641-9, 2009.
129. Nankivell, BJ & Kuypers, DR: Diagnosis and prevention of chronic kidney allograft loss. *Lancet*, 378: 1428-37, 2011.
130. Nasir, K, Guallar, E, Navas-Acien, A, Criqui, MH & Lima, JA: Relationship of monocyte count and peripheral arterial disease: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2002. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25: 1966-71, 2005.

131. Neipp, M, Karavul, B, Jackobs, S, Meyer zu Vilsendorf, A, Richter, N, Becker, T, Schwarz, A & Klempnauer, J: Quality of life in adult transplant recipients more than 15 years after kidney transplantation. *Transplantation*, 81: 1640-4, 2006.
132. Neovius, M, Jacobson, SH, Eriksson, JK, Elinder, CG & Hylander, B: Mortality in chronic kidney disease and renal replacement therapy: a population-based cohort study. *BMJ Open*, 4: e004251, 2014.
133. Newby, AC: Dual role of matrix metalloproteinases (matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture. *Physiol Rev*, 85: 1-31, 2005.
134. Oberbauer, R, Segoloni, G, Campistol, JM, Kreis, H, Mota, A, Lawen, J, Russ, G, Grinyó, JM, Stallone, G, Hartmann, A, Pinto, JR, Chapman, J, Burke, JT, Brault, Y, Neylan, JF & for the Rapamune Maintenance Regimen Study, G: Early cyclosporine withdrawal from a sirolimus-based regimen results in better renal allograft survival and renal function at 48 months after transplantation. *Transplant International*, 18: 22-28, 2005.
135. Ohtani, M, Nagai, S, Kondo, S, Mizuno, S, Nakamura, K, Tanabe, M, Takeuchi, T, Matsuda, S & Koyasu, S: Mammalian target of rapamycin and glycogen synthase kinase 3 differentially regulate lipopolysaccharide-induced interleukin-12 production in dendritic cells. *Blood*, 112: 635-43, 2008.
136. Ojo, AO, Hanson, JA, Wolfe, RA, Leichtman, AB, Agodoa, LY & Port, FK: Long-term survival in renal transplant recipients with graft function. *Kidney Int*, 57: 307-13, 2000.
137. Ojo, AO, Port, FK, Wolfe, RA, Mauger, EA, Williams, L & Berling, DP: Comparative mortality risks of chronic dialysis and cadaveric transplantation in black end-stage renal disease patients. *Am J Kidney Dis*, 24: 59-64, 1994.
138. Opelz, G: President's Address. The Transplantation Society--Berlin 2012. *Transplantation*, 95: 4-7, 2013.
139. Opelz, G & Dohler, B: Improved long-term outcomes after renal transplantation associated with blood pressure control. *Am J Transplant*, 5: 2725-31, 2005.
140. Ott, U, Busch, M, Steiner, T & Wolf, G: Presence of cardiovascular disease in patients on a waiting list for renal transplantation and in patients after kidney transplantation in a single center. *Transplant Proc*, 42: 3450-4, 2010.
141. Painter, PL, Hector, L, Ray, K, Lynes, L, Dibble, S, Paul, SM, Tomlanovich, SL & Ascher, NL: A randomized trial of exercise training after renal transplantation. *Transplantation*, 74: 42-8, 2002.

142. Pascual, M, Theruvath, T, Kawai, T, Tolkoff-Rubin, N & Cosimi, AB: Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. *N Engl J Med*, 346: 580-90, 2002.
143. Passlick, B, Flieger, D & Ziegler-Heitbrock, HW: Identification and characterization of a novel monocyte subpopulation in human peripheral blood. *Blood*, 74: 2527-34, 1989.
144. Pelletier, RP, Akin, B & Ferguson, RM: Prospective, randomized trial of steroid withdrawal in kidney recipients treated with mycophenolate mofetil and cyclosporine. *Clin Transplant*, 20: 10-8, 2006.
145. Pilmore, H, Dent, H, Chang, S, McDonald, SP & Chadban, SJ: Reduction in cardiovascular death after kidney transplantation. *Transplantation*, 89: 851-7, 2010.
146. Pita-Fernandez, S, Pertega-Diaz, S, Valdes-Canedo, F, Seijo-Bestilleiro, R, Seoane-Pillado, T, Fernandez-Rivera, C, Alonso-Hernandez, A, Lorenzo-Aguiar, D, Lopez-Calvino, B & Lopez-Muniz, A: Incidence of cardiovascular events after kidney transplantation and cardiovascular risk scores: study protocol. *BMC Cardiovasc Disord*, 11: 2, 2011.
147. Poitou, C, Dalmás, E, Renovato, M, Benhamo, V, Hajdúch, F, Abdennour, M, Kahn, JF, Veyrie, N, Rizkalla, S, Fridman, WH, Sautes-Fridman, C, Clement, K & Cremer, I: CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup> and CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> monocytes in obesity and during weight loss: relationships with fat mass and subclinical atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 31: 2322-30, 2011.
148. Ponticelli, C: Steroid-sparing strategies. *Transplant Proc*, 37: 3597-9, 2005.
149. Ponticelli, C: Present and future of immunosuppressive therapy in kidney transplantation. *Transplant Proc*, 43: 2439-40, 2011.
150. Prakash, J, Ghosh, B, Singh, S, Soni, A & Rathore, SS: Causes of death in renal transplant recipients with functioning allograft. *Indian J Nephrol*, 22: 264-8, 2012.
151. Rana, JS, Boekholdt, SM, Ridker, PM, Jukema, JW, Luben, R, Bingham, SA, Day, NE, Wareham, NJ, Kastelein, JJ & Khaw, KT: Differential leucocyte count and the risk of future coronary artery disease in healthy men and women: the EPIC-Norfolk Prospective Population Study. *J Intern Med*, 262: 678-89, 2007.
152. Randolph, GJ, Inaba, K, Robbiani, DF, Steinman, RM & Muller, WA: Differentiation of phagocytic monocytes into lymph node dendritic cells in vivo. *Immunity*, 11: 753-61, 1999.

153. Rigatto, C, Foley, R, Jeffery, J, Negrijn, C, Tribula, C & Parfrey, P: Electrocardiographic left ventricular hypertrophy in renal transplant recipients: prognostic value and impact of blood pressure and anemia. *J Am Soc Nephrol*, 14: 462-8, 2003.
154. Rogacev, KS, Cremers, B, Zawada, AM, Seiler, S, Binder, N, Ege, P, Grosse-Dunker, G, Heisel, I, Hornof, F, Jeken, J, Rebling, NM, Ulrich, C, Scheller, B, Bohm, M, Fliser, D & Heine, GH: CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> monocytes independently predict cardiovascular events: a cohort study of 951 patients referred for elective coronary angiography. *J Am Coll Cardiol*, 60: 1512-20, 2012.
155. Rogacev, KS & Heine, GH: Human monocyte heterogeneity--a nephrological perspective. *Nephrol Ther*, 6: 219-25, 2010.
156. Rogacev, KS, Seiler, S, Zawada, AM, Reichart, B, Herath, E, Roth, D, Ulrich, C, Fliser, D & Heine, GH: CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> monocytes and cardiovascular outcome in patients with chronic kidney disease. *Eur Heart J*, 32: 84-92, 2011.
157. Rogacev, KS, Ulrich, C, Blomer, L, Hornof, F, Oster, K, Ziegelin, M, Cremers, B, Grenner, Y, Geisel, J, Schlitt, A, Kohler, H, Fliser, D, Girndt, M & Heine, GH: Monocyte heterogeneity in obesity and subclinical atherosclerosis. *Eur Heart J*, 31: 369-76, 2010.
158. Rogacev, KS, Ziegelin, M, Ulrich, C, Seiler, S, Girndt, M, Fliser, D & Heine, GH: Haemodialysis-induced transient CD16<sup>+</sup> monocytopenia and cardiovascular outcome. *Nephrol Dial Transplant*, 24: 3480-6, 2009.
159. Rose, GA: The diagnosis of ischaemic heart pain and intermittent claudication in field surveys. *Bull World Health Organ*, 27: 645-58, 1962.
160. Ross, R: Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 340: 115-26, 1999.
161. Rossol, M, Kraus, S, Pierer, M, Baerwald, C & Wagner, U: The CD14(bright) CD16<sup>+</sup> monocyte subset is expanded in rheumatoid arthritis and promotes expansion of the Th17 cell population. *Arthritis Rheum*, 64: 671-7, 2012.
162. Rothe, G, Gabriel, H, Kovacs, E, Klucken, J, Stohr, J, Kindermann, W & Schmitz, G: Peripheral blood mononuclear phagocyte subpopulations as cellular markers in hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 16: 1437-47, 1996.
163. Rothe, G, Herr, AS, Stohr, J, Abletshauser, C, Weidinger, G & Schmitz, G: A more mature phenotype of blood mononuclear phagocytes is induced by fluvastatin treatment in hypercholesterolemic patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis*, 144: 251-61, 1999.

164. Russ, GR: Optimising the use of mTOR inhibitors in renal transplantation. *Transplant Res*, 2: S4, 2013.
165. Russell, JD, Beecroft, ML, Ludwin, D & Churchill, DN: The quality of life in renal transplantation--a prospective study. *Transplantation*, 54: 656-60, 1992.
166. Saemann, MD, Haidinger, M, Hecking, M, Horl, WH & Weichhart, T: The multifunctional role of mTOR in innate immunity: implications for transplant immunity. *Am J Transplant*, 9: 2655-61, 2009.
167. Saionji, K & Ohsaka, A: Expansion of CD4+CD16+ blood monocytes in patients with chronic renal failure undergoing dialysis: possible involvement of macrophage colony-stimulating factor. *Acta Haematol*, 105: 21-6, 2001.
168. Sako, H, Miura, S, Iwata, A, Nishikawa, H, Kawamura, A, Matsuo, K, Shirai, K & Saku, K: Changes in CCR2 chemokine receptor expression and plasma MCP-1 concentration after the implantation of bare metal stents versus sirolimus-eluting stents in patients with stable angina. *Intern Med*, 47: 7-13, 2008.
169. Saleh, MN, Goldman, SJ, LoBuglio, AF, Beall, AC, Sabio, H, McCord, MC, Minasian, L, Alpaugh, RK, Weiner, LM & Munn, DH: CD16+ monocytes in patients with cancer: spontaneous elevation and pharmacologic induction by recombinant human macrophage colony-stimulating factor. *Blood*, 85: 2910-7, 1995.
170. Salerno, MP, Zichichi, E, Rossi, E, Favi, E, Gargiulo, A, Spagnoletti, G & Citterio, F: Evolution of causes of mortality in renal transplantation in the last 10 years. *Transplant Proc*, 42: 1077-9, 2010.
171. Sandrini, S, Maffei, R, Setti, G, Bossini, N, Maiorca, P, Maffei, C, Guerini, S, Zubani, R, Portolani, N, Bonardelli, S, Nodari, F, Giulini, SM & Cancarini, G: Steroid-free immunosuppression regime reduces both long-term cardiovascular morbidity and patient mortality in renal transplant recipients. *Clin Transplant*, 20: 571-81, 2006.
172. Sarnak, MJ, Levey, AS, Schoolwerth, AC, Coresh, J, Culleton, B, Hamm, LL, McCullough, PA, Kasiske, BL, Kelepouris, E, Klag, MJ, Parfrey, P, Pfeffer, M, Raij, L, Spinosa, DJ & Wilson, PW: Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Circulation*, 108: 2154-69, 2003.
173. Schena, FP, Pascoe, MD, Alberu, J, del Carmen Rial, M, Oberbauer, R, Brennan, DC, Campistol, JM, Racusen, L, Polinsky, MS, Goldberg-Alberts, R, Li, H, Scarola, J & Neylan, JF: Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus maintenance therapy

- in renal allograft recipients: 24-month efficacy and safety results from the CONVERT trial. *Transplantation*, 87: 233-42, 2009.
174. Scherberich, JE: Proinflammatory blood monocytes: main effector and target cells in systemic and renal disease; background and therapeutic implications. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 41: 459-64, 2003.
175. Scherberich, JE, Estner, H & Segerer, W: Impact of different immunosuppressive regimens on antigen-presenting blood cells in kidney transplant patients. *Kidney Blood Press Res*, 27: 177-80, 2004.
176. Scherberich, JE & Nockher, WA: CD14<sup>++</sup> monocytes, CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup> subset and soluble CD14 as biological markers of inflammatory systemic diseases and monitoring immunosuppressive therapy. *Clin Chem Lab Med*, 37: 209-13, 1999.
177. Schlitt, A, Heine, GH, Blankenberg, S, Espinola-Klein, C, Dopheide, JF, Bickel, C, Lackner, KJ, Iz, M, Meyer, J, Darius, H & Rupprecht, HJ: CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> monocytes in coronary artery disease and their relationship to serum TNF-alpha levels. *Thromb Haemost*, 92: 419-24, 2004.
178. Schmidt, M, Pauels, HG, Lugerling, N, Lugerling, A, Domschke, W & Kucharzik, T: Glucocorticoids induce apoptosis in human monocytes: potential role of IL-1 beta. *J Immunol*, 163: 3484-90, 1999.
179. Schnuelle, P, Lorenz, D, Trede, M & Van Der Woude, FJ: Impact of renal cadaveric transplantation on survival in end-stage renal failure: evidence for reduced mortality risk compared with hemodialysis during long-term follow-up. *J Am Soc Nephrol*, 9: 2135-41, 1998.
180. Sester, U, Sester, M, Heine, G, Kaul, H, Girndt, M & Kohler, H: Strong depletion of CD14<sup>(+)</sup>CD16<sup>(+)</sup> monocytes during haemodialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant*, 16: 1402-8, 2001.
181. Shing, CM, Fassett, RG, Brown, L & Coombes, JS: The effects of immunosuppressants on vascular function, systemic oxidative stress and inflammation in rats. *Transpl Int*, 25: 337-46, 2012.
182. Shirali, AC & Bia, MJ: Management of cardiovascular disease in renal transplant recipients. *Clin J Am Soc Nephrol*, 3: 491-504, 2008.
183. Silver, SA, Huang, M, Nash, MM & Prasad, GV: Framingham risk score and novel cardiovascular risk factors underpredict major adverse cardiac events in kidney transplant recipients. *Transplantation*, 92: 183-9, 2011.

184. Soares, G, Barral, A, Costa, JM, Barral-Netto, M & Van Weyenbergh, J: CD16+ monocytes in human cutaneous leishmaniasis: increased ex vivo levels and correlation with clinical data. *J Leukoc Biol*, 79: 36-9, 2006.
185. Soveri, I, Holme, I, Holdaas, H, Budde, K, Jardine, AG & Fellstrom, B: A cardiovascular risk calculator for renal transplant recipients. *Transplantation*, 94: 57-62, 2012.
186. Stamler, J: Blood pressure and high blood pressure. Aspects of risk. *Hypertension*, 18: I95-107, 1991.
187. Sweetnam, PM, Thomas, HF, Yarnell, JW, Baker, IA & Elwood, PC: Total and differential leukocyte counts as predictors of ischemic heart disease: the Caerphilly and Speedwell studies. *Am J Epidemiol*, 145: 416-21, 1997.
188. Szaflarska, A, Baj-Krzyworzeka, M, Siedlar, M, Weglarczyk, K, Ruggiero, I, Hajto, B & Zembala, M: Antitumor response of CD14+/CD16+ monocyte subpopulation. *Exp Hematol*, 32: 748-55, 2004.
189. Tapp, LD, Shantsila, E, Wrigley, BJ, Pamukcu, B & Lip, GY: The CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> monocyte subset and monocyte-platelet interactions in patients with ST-elevation myocardial infarction. *J Thromb Haemost*, 10: 1231-41, 2012.
190. Taylor, AL, Watson, CJ & Bradley, JA: Immunosuppressive agents in solid organ transplantation: Mechanisms of action and therapeutic efficacy. *Crit Rev Oncol Hematol*, 56: 23-46, 2005.
191. Thauinat, O, Beaumont, C, Chatenoud, L, Lechaton, S, Mamzer-Bruneel, MF, Varet, B, Kreis, H & Morelon, E: Anemia after late introduction of sirolimus may correlate with biochemical evidence of a chronic inflammatory state. *Transplantation*, 80: 1212-9, 2005.
192. Thieblemont, N, Weiss, L, Sadeghi, HM, Estcourt, C & Haeffner-Cavaillon, N: CD14<sup>low</sup>CD16<sup>high</sup>: a cytokine-producing monocyte subset which expands during human immunodeficiency virus infection. *Eur J Immunol*, 25: 3418-24, 1995.
193. Ulrich, C, Heine, GH, Garcia, P, Reichart, B, Georg, T, Krause, M, Kohler, H & Girndt, M: Increased expression of monocytic angiotensin-converting enzyme in dialysis patients with cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transplant*, 21: 1596-602, 2006.
194. Ulrich, C, Heine, GH, Gerhart, MK, Kohler, H & Girndt, M: Proinflammatory CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> monocytes are associated with subclinical atherosclerosis in renal transplant patients. *Am J Transplant*, 8: 103-10, 2008.
195. Ulrich, C, Heine, GH, Seibert, E, Fliser, D & Girndt, M: Circulating monocyte subpopulations with high expression of angiotensin-converting enzyme predict

- mortality in patients with end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant*, 25: 2265-72, 2010.
196. Ulrich, C, Seibert, E, Heine, GH, Fliser, D & Girndt, M: Monocyte angiotensin converting enzyme expression may be associated with atherosclerosis rather than arteriosclerosis in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol*, 6: 505-11, 2011.
197. US: renal Data system. USRDS 2007 annual data report: atlas of chronic kidney disease and end-stage renal disease in the united states; Chapter 7: Transplantation. <http://www.usrds.org/atlas07.aspx>, 2007.
198. Vanham, G, Edmonds, K, Qing, L, Hom, D, Toossi, Z, Jones, B, Daley, CL, Huebner, B, Kestens, L, Gigase, P & Ellner, JJ: Generalized immune activation in pulmonary tuberculosis: co-activation with HIV infection. *Clin Exp Immunol*, 103: 30-4, 1996.
199. Vereyken, EJ, Kraaij, MD, Baan, CC, Rezaee, F, Weimar, W, Wood, KJ, Leenen, PJ & Rowshani, AT: A shift towards pro-inflammatory CD16+ monocyte subsets with preserved cytokine production potential after kidney transplantation. *PLoS One*, 8: e70152, 2013.
200. Verheye, S, Martinet, W, Kockx, MM, Knaapen, MW, Salu, K, Timmermans, JP, Ellis, JT, Kilpatrick, DL & De Meyer, GR: Selective clearance of macrophages in atherosclerotic plaques by autophagy. *J Am Coll Cardiol*, 49: 706-15, 2007.
201. Vincenti, F, Larsen, C, Durrbach, A, Wekerle, T, Nashan, B, Blancho, G, Lang, P, Grinyo, J, Halloran, PF, Solez, K, Hagerty, D, Levy, E, Zhou, W, Natarajan, K & Charpentier, B: Costimulation blockade with belatacept in renal transplantation. *N Engl J Med*, 353: 770-81, 2005.
202. Vincenti, F, Monaco, A, Grinyo, J, Kinkhabwala, M & Roza, A: Multicenter randomized prospective trial of steroid withdrawal in renal transplant recipients receiving basiliximab, cyclosporine microemulsion and mycophenolate mofetil. *Am J Transplant*, 3: 306-11, 2003.
203. Vincenti, F, Schena, FP, Paraskevas, S, Hauser, IA, Walker, RG & Grinyo, J: A randomized, multicenter study of steroid avoidance, early steroid withdrawal or standard steroid therapy in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*, 8: 307-16, 2008.
204. Virmani, R, Burke, AP, Farb, A & Kolodgie, FD: Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol*, 47: C13-8, 2006.
205. Vollmar, AM & Gerbes, AL: Historie und Status quo der Transplantationsmedizin. *Pharmazie in unserer Zeit*, 4: 262-267, 2005.

206. Wang, S, Peng, Q, Zhang, J & Liu, L: Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger is required for hyperglycaemia-induced endothelial dysfunction via calcium-dependent calpain. *Cardiovasc Res*, 80: 255-62, 2008.
207. Weber, C, Belge, KU, von Hundelshausen, P, Draude, G, Steppich, B, Mack, M, Frankenberger, M, Weber, KS & Ziegler-Heitbrock, HW: Differential chemokine receptor expression and function in human monocyte subpopulations. *J Leukoc Biol*, 67: 699-704, 2000.
208. Webster, AC, Lee, VW, Chapman, JR & Craig, JC: Target of rapamycin inhibitors (sirolimus and everolimus) for primary immunosuppression of kidney transplant recipients: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Transplantation*, 81: 1234-48, 2006.
209. Weichhart, T, Costantino, G, Poglitsch, M, Rosner, M, Zeyda, M, Stuhlmeier, KM, Kolbe, T, Stulnig, TM, Horl, WH, Hengstschlager, M, Muller, M & Saemann, MD: The TSC-mTOR signaling pathway regulates the innate inflammatory response. *Immunity*, 29: 565-77, 2008.
210. Weichhart, T, Haidinger, M, Katholnig, K, Kopecky, C, Poglitsch, M, Lassnig, C, Rosner, M, Zlabinger, GJ, Hengstschlager, M, Muller, M, Horl, WH & Saemann, MD: Inhibition of mTOR blocks the anti-inflammatory effects of glucocorticoids in myeloid immune cells. *Blood*, 117: 4273-83, 2011.
211. Weichhart, T & Saemann, MD: Sirolimus and kidney transplantation: unraveling an inflammatory affair. *Am J Transplant*, 10: 2569-70, 2010.
212. Weir, MR, Mulgaonkar, S, Chan, L, Shidban, H, Waid, TH, Preston, D, Kalil, RN & Pearson, TC: Mycophenolate mofetil-based immunosuppression with sirolimus in renal transplantation: a randomized, controlled Spare-the-Nephron trial. *Kidney Int*, 79: 897-907, 2011.
213. Wilkinson, A, Davidson, J, Dotta, F, Home, PD, Keown, P, Kiberd, B, Jardine, A, Levitt, N, Marchetti, P, Markell, M, Naicker, S, O'Connell, P, Schnitzler, M, Standl, E, Torregosa, JV, Uchida, K, Valantine, H, Villamil, F, Vincenti, F & Wissing, M: Guidelines for the treatment and management of new-onset diabetes after transplantation. *Clin Transplant*, 19: 291-8, 2005.
214. Wolfe, RA, Ashby, VB, Milford, EL, Ojo, AO, Ettenger, RE, Agodoa, LY, Held, PJ & Port, FK: Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med*, 341: 1725-30, 1999.

215. Woltman, AM, de Fijter, JW, Kamerling, SW, van Der Kooij, SW, Paul, LC, Daha, MR & van Kooten, C: Rapamycin induces apoptosis in monocyte- and CD34-derived dendritic cells but not in monocytes and macrophages. *Blood*, 98: 174-80, 2001.
216. Wong, KL, Tai, JJ, Wong, WC, Han, H, Sem, X, Yeap, WH, Kourilsky, P & Wong, SC: Gene expression profiling reveals the defining features of the classical, intermediate, and nonclassical human monocyte subsets. *Blood*, 118: e16-31, 2011.
217. Woodle, ES, First, MR, Pirsch, J, Shihab, F, Gaber, AO & Van Veldhuisen, P: A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial comparing early (7 day) corticosteroid cessation versus long-term, low-dose corticosteroid therapy. *Ann Surg*, 248: 564-77, 2008.
218. Yong, K, Nguyen, HD, Hii, L, Chan, DT, Boudville, N, Messineo, A, Lim, EM, Dogra, GK & Lim, WH: Association of a change in immunosuppressive regimen with hemodynamic and inflammatory markers of cardiovascular disease after kidney transplantation. *Am J Hypertens*, 26: 843-9, 2013.
219. Zawada, AM, Rogacev, KS, Rotter, B, Winter, P, Marell, RR, Fliser, D & Heine, GH: SuperSAGE evidence for CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> monocytes as a third monocyte subset. *Blood*, 118: e50-61, 2011.
220. Zawada, AM, Rogacev, KS, Schirmer, SH, Sester, M, Bohm, M, Fliser, D & Heine, GH: Monocyte heterogeneity in human cardiovascular disease. *Immunobiology*, 217: 1273-84, 2012.
221. Zaza, G, Granata, S, Tomei, P, Masola, V, Gambaro, G & Lupo, A: mTOR inhibitors and renal allograft: Yin and Yang. *J Nephrol*, 2014.
222. Zelle, DM, Corpeleijn, E, Stolk, RP, de Greef, MH, Gans, RO, van der Heide, JJ, Navis, G & Bakker, SJ: Low physical activity and risk of cardiovascular and all-cause mortality in renal transplant recipients. *Clin J Am Soc Nephrol*, 6: 898-905, 2011.
223. Zerneck, A, Liehn, EA, Gao, JL, Kuziel, WA, Murphy, PM & Weber, C: Deficiency in CCR5 but not CCR1 protects against neointima formation in atherosclerosis-prone mice: involvement of IL-10. *Blood*, 107: 4240-3, 2006.
224. Zerneck, A, Shagdarsuren, E & Weber, C: Chemokines in atherosclerosis: an update. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 28: 1897-908, 2008.
225. Ziegler-Heitbrock, HW: Definition of human blood monocytes. *J Leukoc Biol*, 67: 603-6, 2000.
226. Ziegler-Heitbrock, L, Ancuta, P, Crowe, S, Dalod, M, Grau, V, Hart, DN, Leenen, PJ, Liu, YJ, MacPherson, G, Randolph, GJ, Scherberich, J, Schmitz, J, Shortman, K,

Sozzani, S, Strobl, H, Zembala, M, Austyn, JM & Lutz, MB: Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood*, 116: e74-80, 2010.

## 7. Abbildungsverzeichnis

1. Verwendete Gatingstrategie zur Bestimmung von Monozytensubpopulationen S. 24
2. Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen bei Patienten mit und ohne Steroideinnahme S. 37
3. Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen bei Patienten mit und ohne mTOR-Inhibitor-Einnahme S. 38
4. Repräsentatives Beispiel der Verteilung der Monozytensubpopulationen bei jeweils einem Patienten mit und ohne Steroideinnahme S. 39

## 8. Tabellenverzeichnis

1. Risikofaktoren für die Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen bei nierentransplantierten Patienten	S. 13
2. Verwendetes Urinröhrchen und daraus bestimmte Urinparameter	S. 20
3. Verwendete Blutröhrchen und daraus bestimmte Blutparameter	S. 21
4. Zur Vollblutfärbung verwendete Mengen der Antikörper	S. 22
5. Patientencharakteristika der Gesamtkohorte und Vergleich von Patientengruppen mit und ohne Steroid-, bzw. mit und ohne mTOR-Inhibitor-Einnahme	S. 31
6. Korrelation von Zellzahlen der Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen mit traditionellen und nicht-traditionellen Risikofaktoren sowie mit Nierenfunktionsparametern bei der Gesamtkohorte	S. 34
7. Zellzahlen der Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen in Abhängigkeit von Raucherstatus, prävalentem Diabetes mellitus und prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen bei der Gesamtkohorte	S. 35
8. Patientencharakteristika und Vergleich von Monozyten-Zellzahlen bei gesunden Probanden (I Like Home) und nierentransplantierten Patienten mit (HOMe Alone, Steroid: Ja) bzw. ohne (HOMe Alone, Steroid: Nein) Steroideinnahme	S. 41
9. Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen unter MMF / MPA respektive CNI	S. 44
10. Wirkmechanismus und unerwünschte Nebenwirkungen der wichtigsten Vertreter immunsuppressiver Medikamente nach Nierentransplantation	S. 48
11. Randomisierte klinische Interventionsstudien zur Effektivität und Sicherheit der mTOR-Inhibitoren nach Nierentransplantation	S. 53
12. Randomisierte klinische Interventionsstudien zur Effektivität und Sicherheit steroidfreier Therapieregime nach Nierentransplantation	S. 56
13. Vergleich der eingesetzten Immunsuppressiva bei nierentransplantierten Patienten des Universitätsklinikums des Saarlandes im Jahr 2003 / 2004 (modifiziert nach Ulrich et al.) und im Jahr 2012 / 2013 (HOMe Alone Studie)	S. 59

14. Zellzahlen von Gesamt-, klassischen, intermediären und nicht-klassischen Monozyten in den verschiedenen Kohorten des HOME Studienprojekts	S. 66
15. Korrelation der Monozyten mit BMI, eGFR, Gesamt- und HDL-Cholesterin sowie Triglyceriden in den verschiedenen Kohorten des HOME Studienprojektes	S. 68
16. Potentielle pro- und anti-inflammatorische Auswirkungen von mTOR-Inhibitoren auf Monozyten und Makrophagen	S. 73
17. Anzahl der Patienten unter jeweiliger Medikamentenkombination	S. 114
18. Die drei häufigsten Medikamentenkombinationen der Gesamtkohorte	S. 116
19. Anteil der verwendeten medikamentösen Einfach- oder Mehrfachkombinationen innerhalb der Gesamtkohorte	S. 116
20. Korrelation von Zellzahlen der Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen mit traditionellen und nicht-traditionellen Risikofaktoren sowie mit Nierenfunktionsparametern ( <b>Patienten ohne Steroid-Einnahme</b> )	S. 117
21. Korrelation von Zellzahlen der Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen mit traditionellen und nicht-traditionellen Risikofaktoren sowie mit Nierenfunktionsparametern ( <b>Patienten mit Steroid-Einnahme</b> )	S. 118
22. Zellzahlen der Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen in Abhängigkeit von Raucherstatus, prävalentem Diabetes mellitus und prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen ( <b>Patienten ohne Steroid-Einnahme</b> )	S. 119
23. Zellzahlen der Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen in Abhängigkeit von Raucherstatus, prävalentem Diabetes mellitus und prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen ( <b>Patienten mit Steroid-Einnahme</b> )	S. 120

## **9. Abkürzungsverzeichnis**

<b>ABI</b>	Knöchel-Arm-Index („ankle-brachial-index“)
<b>ACE</b>	Angiotensin-Converting-Enzyme
<b>AE</b>	unerwünschte Nebenwirkungen („adverse effects“)
<b>AGE</b>	advanced glycation end products
<b>AK</b>	Antikörper
<b>AL-AB</b>	Antilymphocyte Antibody
<b>ALAT</b>	Alanin-Aminotransferase
<b>ASAT</b>	Aspartat-Aminotransferase
<b>AT-1-Rezeptor-Antagonist</b>	Angiotensin-1-Rezeptor-Antagonist
<b>Aza</b>	Azathioprin
<b>BAS</b>	Basiliximab
<b>BCAR</b>	Durch Biopsie gesicherte akute Abstoßungsreaktion („biopsy confirmed acute rejection“)
<b>BMI</b>	Body-Mass-Index
<b>BSA</b>	Bovines Serum Albumin
<b>CCR2 / 5</b>	CC-Motiv-Chemokin-Rezeptor 2 / 5
<b>CD</b>	Cluster of Differentiation
<b>CGF</b>	Cockroft-Gault-Formel
<b>CNI</b>	Calcineurininhibitor
<b>CRP</b>	C-reaktives Protein
<b>CsA</b>	Cyclosporin A
<b>CVD</b>	kardiovaskuläre Erkrankungen („cardiovascular disease“)

<b>CV-Risiko</b>	Kardiovaskuläres („cardiovascular“) Risiko
<b>CX<sub>3</sub>CR1</b>	CX <sub>3</sub> Chemokin-Rezeptor
<b>DAC</b>	Daclizumab
<b>DM</b>	Diabetes mellitus
<b>DNA</b>	Desoxyribonukleinsäure
<b>DXA</b>	Dual-Röntgen-Absorptiometrie
<b>EDTA</b>	Ethylendiamintetraessigsäure („ethylene diamine tetraacetic acid“)
<b>eGFR</b>	geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate
<b>EKG</b>	Elektrokardiogramm
<b>FACS</b>	Fluorescence Activated Cell Sorting
<b>FCS</b>	Fetales Kälberserum
<b>FKBP-12</b>	FK506 binding protein 12
<b>FSC</b>	Forward Scatter
<b>gamma-GT</b>	Gamma-Glutamyl-Transferase
<b>Hb</b>	Hämoglobin
<b>HDL-Cholesterin</b>	High-density Lipoprotein-Cholesterin
<b>HIV</b>	Humanes Immundefizienz-Virus
<b>IL</b>	Interleukin
<b>IMT</b>	Intima-Media-Dicke („Intima-media-thickness“)
<b>IU</b>	Iothalamat-Urin-clearance
<b>JNK</b>	c-Jun N-terminale Kinasen
<b>KHK</b>	Koronare Herzerkrankung
<b>LD</b>	Niedrige Dosis („low-dosis“)

<b>LDH</b>	Lactatdehydrogenase
<b>LDL-Cholesterin</b>	Low-density Lipoprotein-Cholesterin
<b>MAPK</b>	Mitogen activated protein kinase
<b>MCH</b>	Hämoglobingehalt des einzelnen Erythrozyten („mean corpuscular hemoglobin“)
<b>MCP-1</b>	Monocyte chemotactic proteine 1
<b>MCSF</b>	Macrophage colony stimulating factor
<b>MDRD</b>	Modifikation of Diet in Renal Disease
<b>mGFR</b>	gemessene glomeruläre Filtrationsrate („measured GFR“)
<b>MMF</b>	Mykophenolat-Mofetil
<b>MPA</b>	Mycophenolic-Acid
<b>mTOR</b>	Mammalian Target Of Rapamycin
<b>n</b>	Anzahl der Studienteilnehmer
<b>NALP3</b>	NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3
<b>NaN<sub>3</sub></b>	Natriumazid
<b>NF</b>	Nankivell-Formel
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	Nuclear factor „kappa-light-chain-enhancer“ of activated B-cells
<b>NT-proBNP</b>	Nicht-terminales proBNP
<b>p</b>	Signifikanzniveau
<b>pAVK</b>	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
<b>PBS</b>	Phosphat buffered saline
<b>PRA</b>	Panel-reaktive Antikörper
<b>proBNP</b>	pro-Brain-Natriuretic-Peptide
<b>PTLD</b>	Post-transplant Lymphoproliferative Disease

<b>r</b>	Korrelationskoeffizient
<b>RAS</b>	G-Protein RAS („rat sarcoma“)
<b>ROS</b>	Reaktive Sauerstoffspezies („reactive oxygen species“)
<b>rpm</b>	Umdrehungen pro Minute („rounds per minute“)
<b>RR dia</b>	Diastolischer Blutdruckwert
<b>RR sys</b>	Systolischer Blutdruckwert
<b>SD</b>	Standard-Dosis
<b>SPSS</b>	Statistical Product And Service Solutions
<b>SRL</b>	Sirolimus
<b>SSC</b>	Side Scatter
<b>ST</b>	Steroid
<b>STAT 3</b>	Signal transducer and activator of transcription 3
<b>TAC</b>	Tacrolimus
<b>TIA</b>	Transitorisch Ischämische Attacke
<b>TLR</b>	Toll-like receptor
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	Tumor necrosis factor alpha
<b>TX</b>	Transplantation / Transplantat
<b>VCAM</b>	Vascular cell adhesion molecule
<b>WHO</b>	World Health Organisation
<b>WHR</b>	Hüft-Taillen-Umfang („waist-to-hip-ratio“)

## 10. Danksagung

Ich bedanke mich ganz herzlich bei all denjenigen, die zum Gelingen dieser Dissertationsarbeit beigetragen haben:

**Herrn Prof. Danilo Fliser** für die Möglichkeit diese Arbeit in seiner Abteilung durchführen zu dürfen.

**Meinem Doktorvater Herrn Prof. Gunnar H. Heine** für die Bereitstellung dieses interessanten Themas und seine exzellente Betreuung, welche nicht zuletzt eine unermüdliche Geduld, das kritische Gegenlesen und Korrigieren der Arbeit, viel Kraft und Zeit, Gedanken in die Tat umzusetzen und die Ermutigung beinhaltet, Teilergebnisse bei wissenschaftlichen Fortbildungen vorzustellen. Es war eine große Bereicherung für mich!

**Meinem Betreuer Herrn Dr. Adam Zawada** für das kritische Gegenlesen, die viele Zeit und Mühen für die Korrekturen, aber besonders für seine ausstrahlende Ruhe.

**Frau Marie-Theres Blinn** für ihr großartiges Organisationstalent, den vielen Sonographie-Unterricht und für die Hilfe bei der Patientenrekrutierung sowie bei technischen Problemen.

**Frau Martina Wagner** für die Monozytenmessungen und die reibungslose Organisation.

**Den Ambulanzschwestern Andrea Nimpsz, Inna Vallar, Sigrun Bick, Elke Dupré und Marion Marx** für die Hilfe und Tipps bei den Blutentnahmen. **Frau Anita Blinn und Frau Renate Schindler** sowie allen **Ambulanzärzten**, allen voran **Frau Dr. Yvonne Michaeli**, für die Hilfe bei der Rekrutierung der Patienten.

**Allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe**, insbesondere **Insa Emrich und Lisa Fell**, für die harmonische Zusammenarbeit.

**Allen Patienten** für ihre Zeit, Geduld und Bereitschaft, an der Studie teilzunehmen.

**Allen Korrekturlesern** für ihre Zeit, Aufmerksamkeit und konstruktive Kritik.

**Meinem Freund Matouš Novák** für seine Geduld und innere Ruhe, für die vielen aufbauenden Gespräche sowie die Unterstützung bei den Lasten des Alltags. **Meiner Familie**, ganz besonders meinen Eltern **Martina Hundsdorfer und Peter Ganß**, meinen Brüdern Jakob und Simon sowie meinen Großeltern für ihre ständige Unterstützung auf meinen Lebensweg.

# 11. Publikation / Präsentation von Teilergebnissen der Arbeit

## 11.1. Publikation von Teilergebnissen der Promotionsarbeit

Kyrill S. Rogacev, Adam M. Zawada, Johanna Hundsdorfer, Marina Achenbach, Gerhard Held, Danilo Fliser, Gunnar H. Heine. Immunosuppression and monocyte subsets. (zum Zeitpunkt der Einreichung der Dissertationsschrift bei Nephrology Dialysis Transplantation zur Publikation akzeptiert)

## 11.2. Präsentation von Teilergebnissen der Promotionsarbeit

Teilergebnisse dieser Arbeit wurden im Rahmen von Posterdemonstrationen bei folgenden Kongressen vorgestellt:

- **57. Jahreskongress der SPIG** (Saarländisch-Pfälzische Internistengesellschaft e.V.) in Neustadt an der Weinstraße vom 7. – 9. März 2013:

„Wertigkeit myokardialer Biomarker bei nierentransplantierten Patienten“

J. M. Hundsdorfer; S. Seiler; K. Rogacev; U. Sester; D. Fliser; G. H. Heine

- **119. Kongress der DGIM** (Deutsche Gesellschaft für Innere Medizin e.V.) in Wiesbaden vom 6. – 9. April 2013:

„pro-BNP und Troponin als Biomarker bei nierentransplantierten Patienten“

J. M. Hundsdorfer; S. Seiler; K. Rogacev; U. Sester; D. Fliser; G. H. Heine

- **6. Jahrestagung der DGfN** (Deutsche Gesellschaft für Nephrologie) in Berlin vom 6. – 9. September 2013:

„Hoch-sensitives Troponin T und linksventrikuläre Hypertrophie bei nierentransplantierten Patienten“

J.M. Hundsdorfer; K. Rogacev; U. Sester; D. Fliser; G.H. Heine

- **58. Jahreskongress der SPIG** (Saarländisch-Pfälzische Internistengesellschaft e.V.) in Neustadt an der Weinstraße vom 6. – 8. März 2014:

„Einfluss von Immunsuppressiva auf die Monozytenheterogenität bei nierentransplantierten Patienten“

J. M. Hundsdorfer; K. Rogacev; A. Zawada; U. Sester; D. Fliser; G. H. Heine

- **120. Kongress der DGIM** (Deutsche Gesellschaft für Innere Medizin e.V.) in Wiesbaden vom 26. – 29. April 2014:

„Einfluss von Immunsuppressiva auf die Monozytenheterogenität bei nierentransplantierten Patienten“

J. M. Hundsdorfer; K. Rogacev; A. Zawada; U. Sester; D. Fliser; G. H. Heine

## 12. Anhang

### 12.1 Datenerhebungsbogen

Untersuchungsdatum \_\_\_\_\_

Proband \_\_\_\_\_ Geburtsdatum \_\_\_\_\_ Geschlecht \_\_\_\_\_

1. Hatten Sie jemals Schmerzen oder Beschwerden in Ihrem Brustkorb?

- Ja
- Nein (*falls Nein, bitte Fragen 2-9 überspringen, weiter mit 10*)

2. Bekommen Sie diese Schmerzen oder Beschwerden beim Bergangehen oder raschen Gehen?

- Ja
- Nein (*falls Nein, weiter mit 9*)
- Ich gehe nicht bergan und gehe nicht rasch.

3. Bekommen Sie diese Schmerzen oder Beschwerden beim Gehen in normalem Tempo in der Ebene?

- Ja
- Nein

4. Was machen Sie, wenn Sie diese Schmerzen oder Beschwerden beim Gehen bekommen?

- Ich halte an oder laufe langsamer
- Ich laufe weiter (*weiter mit Frage 9*)

*Bei Benutzung von Nitrospray: „Ich halte an oder laufe langsamer“ ankreuzen.*

5. Wenn Sie anhalten, was passiert mit diesen Schmerzen oder diesen Beschwerden?

- Es kommt zu einer Erleichterung
- Es kommt zu keiner Erleichterung (*weiter mit Frage 9*)

6. Wie rasch?

- Innerhalb von 10 Minuten.
- Nicht innerhalb von 10 Minuten (*weiter mit Frage 9*)

7. Zeigen Sie mir bitte, wo diese Schmerzen oder die Beschwerden lokalisiert sind (*alle Angaben notieren*)

- Sternum (oberes oder mittleres Drittel)
- Sternum (unteres Drittel)
- Linksseitige vordere Brustwand
- Linker Arm

8. Haben Sie diese Schmerzen oder Beschwerden sonstwo?

- Ja (Notieren wo \_\_\_\_\_)
- Nein

9. Hatten Sie jemals einen schweren Schmerz über der Vorderseite Ihres Brustkorbes, der über dreißig Minuten oder länger anhielt?

- Ja
- Nein

10. Bekommen Sie Schmerzen beim Gehen in einem oder beiden Beinen?

- Ja
- Nein (*falls nein, weiter mit Frage 19*)

11. Begann dieser Schmerz jemals beim Stehen in Ruhe oder beim Sitzen?

- Ja (*falls ja, weiter mit Frage 19*)
- Nein

12. Wo im Bein empfinden Sie diesen Schmerz?

- Der Schmerz bezieht den oder die Unterschenkel ein.
- Der Schmerz bezieht den oder die Unterschenkel nicht ein. (*weiter mit Frage 19*)

13. Bekommen Sie diesen Schmerz beim Bergangehen oder raschen Gehen?

- Ja

- Nein (*falls nein, weiter mit Frage 19*)
- Ich gehe nicht bergan und gehe nicht rasch.

14. Bekommen Sie diesen Schmerz beim Gehen in normalem Tempo in der Ebene?

- Ja
- Nein

15. Ist der Schmerz jemals während des Gehens verschwunden?

- Ja (*falls ja, weiter mit Frage 19*)
- Nein

16. Was machen Sie, wenn Sie diese Schmerzen oder Beschwerden beim Gehen bekommen?

- Ich halte an oder laufe langsamer.
- Ich laufe weiter. (*weiter mit Frage 19*)

17. Wenn Sie anhalten, was passiert mit diesen Schmerzen oder diesen Beschwerden?

- Es kommt zu einer Erleichterung.
- Es kommt zu keiner Erleichterung. (*weiter mit Frage 19*)

18. Wie rasch?

- Innerhalb von 10 Minuten.
- Nicht innerhalb von 10 Minuten.

19. Hatten Sie jemals einen Herzinfarkt, eine Bypass-OP oder eine Aufdehnung von Herzkranzgefäßen?

- Ja           Details \_\_\_\_\_
- Nein

20. Hatten Sie jemals einen Schlaganfall mit Beschwerden, die länger als 24 Stunden angehalten haben?

- Ja           Details \_\_\_\_\_
- Nein

21. Hatten Sie jemals einen Schlaganfall mit Beschwerden, die kürzer als 24 Stunden angehalten haben, oder plötzlichen Sehverlust über weniger als 24 Stunden?

- Ja Details \_\_\_\_\_
- Nein

22. Sind Ihre Halsschlagadern operiert oder mittels Katheter aufgedehnt worden?

- Ja Details \_\_\_\_\_
- Nein

23. Sind Ihre Becken- oder Beinschlagadern mittels Bypass operiert oder aufgedehnt worden (dies umfasst keine Krampfader-OP)?

- Ja Details \_\_\_\_\_
- Nein

24. Ist bei Ihnen eine bösartige Tumorerkrankung oder eine chronische Entzündungskrankheit, etwa eine chronische Darmentzündung oder eine chronische Leberentzündung bekannt?

- Ja Details \_\_\_\_\_
- Nein

25. Hatten Sie in den letzten fünf Tagen einen akuten Infekt?

- Ja, ohne Fieber  $> 38,5^{\circ}\text{C}$  Details \_\_\_\_\_
- Ja, mit Fieber  $> 38,5^{\circ}\text{C}$  Details \_\_\_\_\_
- Nein

26. Haben Sie jemals geraucht?

- Ja
- Nein (*weiter mit Frage 31*)

27. Rauchen Sie aktuell?

- Ja (*weiter mit Frage 29*)
- Nein

28. Wann haben Sie die letzte Zigarette geraucht? \_\_\_\_\_

29. Wie viele Jahre haben Sie insgesamt geraucht? \_\_\_\_\_

30. Wie viele Päckchen haben Sie durchschnittlich am Tag über all diese Jahre geraucht?

---

31. Haben Ihr Vater oder Ihre Mutter einen Herzinfarkt oder einen Schlaganfall vor dem 60. Lebensjahr erlitten?

- Ja
- Nein

32. Hat eines oder mehrere Ihrer Geschwister einen Herzinfarkt oder einen Schlaganfall vor dem 60. Lebensjahr erlitten?

- Ja
- Nein

33. Ist bei Ihnen Diabetes mellitus bekannt?

- Ja
- Nein (*weiter mit Frage 35*)

34. Wie ist der Diabetes mellitus behandelt?

- Insulin
- Blutzuckersenkende Tabletten
- Diät

35. An wie vielen Tagen der Woche betätigen Sie sich mind. 30 min sportlich in einem Ausmaß, dass Sie ins Schwitzen kommen? (*falls „0“, weiter mit Frage 37*) \_\_\_\_\_

36. Welche Sportarten betrieben Sie hierbei mindestens einmal pro Woche? \_\_\_\_\_

37a. Wie viele Stunden täglich schauen Sie unter der Woche (werktags, Mo-Fr) fern?

\_\_\_\_\_

37b. Wie viele Stunden täglich schauen Sie am Wochenende (Sa-So) fern?

\_\_\_\_\_

38a. Waren Sie zum Zeitpunkt der Blutentnahme über mindestens acht Stunden nüchtern (nüchtern schließt Nahrung und Kaffee aus)?

- Ja
- Nein



## 12.2 Detaillierte Darstellung der immunsuppressiven Medikation

Ja

Nein

Tabelle 17: Anzahl der Patienten unter jeweiliger Medikamentenkombination

Gluko- kortikoid	CNI		Antimetabolite			mTOR-Inhibitoren		Anzahl der Patienten
	Steroid	Cyclosporin A	Tacrolimus	Azathioprin	MMF	MPA	Sirolimus	
								7 (4,4 %)
								6 (3,8 %)
								22 (13,8 %)
								1 (0,6 %)
								39 (24,5 %)
								3 (1,9 %)
								1 (0,6 %)
								1 (0,6 %)
								10 (6,3 %)
								9 (5,7 %)

Gluko- kortikoid	CNI		Antimetabolite			mTOR-Inhibitoren		Anzahl der Patienten
	Steroid	Cyclosporin A	Tacrolimus	Azathioprin	MMF	MPA	Sirolimus	
								1 (0,6 %)
								13 (8,2 %)
								1 (0,6 %)
								3 (1,9 %)
								1 (0,6 %)
								3 (1,9 %)
								1 (0,6 %)
								1 (0,6 %)
								28 (17,6 %)
								5 (3,1 %)
								1 (0,6 %)
								1 (0,6 %)
								1 (0,6 %)

Tabelle 18: Die drei häufigsten Medikamentenkombinationen der Gesamtkohorte

Anzahl der Patienten (% innerhalb der Gesamtkohorte)	Medikamentenkombination
39 (24,5 %)	Steroid, Tacrolimus, MMF
28 (17,6 %)	Tacrolimus, MMF
22 (13,8 %)	Steroid, Tacrolimus

Tabelle 19: Anteil der verwendeten medikamentösen Einfach- oder Mehrfachkombinationen innerhalb der Gesamtkohorte

Verwendete immunsuppressive Medikamente in Kombination	Anzahl (% innerhalb der Gesamtkohorte)
1	4 (2,5 %)
2	96 (60,4 %)
3	59 (37,1 %)

### 12.3 Monozytenzahlen, kardiovaskuläre Risikofaktoren und prävalente kardiovaskuläre Ereignisse: Subgruppenanalysen von Patienten mit und ohne Steroidmedikation

Tabelle 20: Korrelation von Zellzahlen der Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen mit traditionellen und nicht-traditionellen Risikofaktoren sowie mit Nierenfunktionsparametern (**Patienten ohne Steroid-Einnahme**)

	Gesamte Monozyten		Klassische Monozyten		Intermediäre Monozyten		Nicht-klassische Monozyten	
	r	p	r	p	r	p	r	p
<b>BMI</b>	-0,159	0,303	-0,108	0,484	-0,252	0,098	-0,173	0,262
<b>RR systolisch</b>	0,079	0,610	0,083	0,590	-0,101	0,513	-0,047	0,760
<b>RR diastolisch</b>	0,197	0,201	0,208	0,176	-0,084	0,588	-0,103	0,505
<b>eGFR</b>	-0,065	0,676	-0,075	0,629	-0,003	0,983	-0,016	0,918
<b>CRP</b>	0,255	0,094	0,256	0,093	0,227	0,138	-0,036	0,815
<b>Cholesterin</b>	-0,206	0,185	-0,232	0,134	-0,075	0,634	-0,047	0,766
<b>Triglyceride</b>	-0,006	0,969	0,061	0,699	-0,175	0,263	-0,242	0,117
<b>LDL-Cholesterin</b>	-0,181	0,252	-0,222	0,157	0,071	0,654	0,009	0,953
<b>HDL-Cholesterin</b>	0,111	0,485	0,068	0,667	0,177	0,261	0,254	0,104
<b>Albuminurie</b>	-0,324	<b>0,036</b>	-0,332	<b>0,032</b>	-0,141	0,374	-0,101	0,524
<b>pro-BNP</b>	0,301	0,056	0,288	0,068	0,142	0,376	0,183	0,252
<b>Cystatin C</b>	0,338	<b>0,029</b>	0,343	<b>0,026</b>	0,198	0,210	0,169	0,285

Tabelle 21: Korrelation von Zellzahlen der Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen mit traditionellen und nicht-traditionellen Risikofaktoren sowie mit Nierenfunktionsparametern (**Patienten mit Steroid-Einnahme**)

	Gesamte Monozyten		Klassische Monozyten		Intermediäre Monozyten		Nicht-klassische Monozyten	
	r	p	r	p	r	p	r	p
<b>BMI</b>	-0,011	0,905	-0,031	0,746	-0,026	0,788	0,260	<b>0,006</b>
<b>RR systolisch</b>	0,039	0,685	0,048	0,620	-0,069	0,477	-0,009	0,929
<b>RR diastolisch</b>	-0,101	0,291	-0,076	0,428	-0,144	0,132	-0,098	0,306
<b>eGFR</b>	0,002	0,984	0,004	0,969	-0,134	0,164	0,019	0,842
<b>CRP</b>	0,095	0,323	0,064	0,505	0,134	0,164	0,136	0,157
<b>Cholesterin</b>	0,093	0,338	0,132	0,170	-0,117	0,226	-0,054	0,579
<b>Triglyceride</b>	-0,023	0,810	-0,030	0,754	-0,047	0,626	0,051	0,596
<b>LDL-Cholesterin</b>	0,062	0,527	0,083	0,395	-0,125	0,198	0,104	0,282
<b>HDL-Cholesterin</b>	0,020	0,834	0,046	0,638	0,015	0,875	-0,190	0,049
<b>Albuminurie</b>	0,122	0,211	0,124	0,204	0,090	0,357	-0,031	0,753
<b>pro-BNP</b>	-0,034	0,731	-0,042	0,670	0,038	0,696	-0,064	0,511
<b>Cystatin C</b>	0,026	0,796	0,003	0,976	0,145	0,140	0,092	0,351

Tabelle 22: Zellzahlen der Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen in Abhängigkeit von Raucherstatus, prävalentem Diabetes mellitus und prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen (**Patienten ohne Steroid-Einnahme**)

		<b>Gesamte Monozyten</b> [Zellen / $\mu$ l]	<b>Klassische Monozyten</b> [Zellen / $\mu$ l]	<b>Intermediäre Monozyten</b> [Zellen / $\mu$ l]	<b>Nicht-klassische Monozyten</b> [Zellen / $\mu$ l]
<b>Rauchen</b>	Ja (n = 2)	587 $\pm$ 275	474 $\pm$ 192	32 $\pm$ 2	80 $\pm$ 81
	Nein (n = 42)	564 $\pm$ 214	461 $\pm$ 183	27 $\pm$ 16	76 $\pm$ 40
	p	0,885	0,922	0,670	0,875
<b>Diabetes mellitus</b>	Ja (n = 13)	613 $\pm$ 249	506 $\pm$ 187	29 $\pm$ 22	77 $\pm$ 53
	Nein (n = 31)	545 $\pm$ 198	443 $\pm$ 178	27 $\pm$ 13	75 $\pm$ 36
	p	0,342	0,291	0,679	0,899
<b>Prävalente CVD</b>	Ja (n = 11)	674 $\pm$ 244	548 $\pm$ 182	33 $\pm$ 23	92 $\pm$ 58
	Nein (n = 33)	528 $\pm$ 193	432 $\pm$ 174	26 $\pm$ 12	70 $\pm$ 33
	p	<b>0,049</b>	0,065	0,313	0,261

Tabelle 23: Zellzahlen der Gesamtmonozyten und Monozytensubpopulationen in Abhängigkeit von Raucherstatus, prävalentem Diabetes mellitus und prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen (**Patienten mit Steroid-Einnahme**)

		<b>Gesamte Monozyten [Zellen / <math>\mu</math>l]</b>	<b>Klassische Monozyten [Zellen / <math>\mu</math>l]</b>	<b>Intermediäre Monozyten [Zellen / <math>\mu</math>l]</b>	<b>Nicht-klassische Monozyten [Zellen / <math>\mu</math>l]</b>
<b>Rauchen</b>	Ja (n = 14)	705 $\pm$ 159	639 $\pm$ 150	24 $\pm$ 12	42 $\pm$ 26
	Nein (n = 96)	739 $\pm$ 239	639 $\pm$ 209	39 $\pm$ 23	61 $\pm$ 28
	p	0,608	0,988	<b>0,019</b>	<b>0,024</b>
<b>Diabetes mellitus</b>	Ja (n = 34)	756 $\pm$ 250	654 $\pm$ 216	39 $\pm$ 26	63 $\pm$ 33
	Nein (n = 76)	725 $\pm$ 221	633 $\pm$ 196	37 $\pm$ 20	56 $\pm$ 26
	p	0,522	0,606	0,676	0,275
<b>Prävalente CVD</b>	Ja (n = 27)	693 $\pm$ 213	599 $\pm$ 188	36 $\pm$ 22	58 $\pm$ 28
	Nein (n = 83)	748 $\pm$ 234	652 $\pm$ 206	37 $\pm$ 22	58 $\pm$ 29
	p	0,284	0,238	0,809	0,922