

Aus dem Klinikum Stuttgart  
Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Tübingen  
Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin  
mit Laborpraxis

**Untersuchung zur CD26- und CD28-Koexpression auf  
T-Zellen im ersten Jahr nach Nierentransplantation**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von  
Adelhof, Dominique Victoria**

**2021**

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. E. Wieland

2. Berichterstatter: Professorin Dr. R. Klein

Tag der Disputation: 12.10.2021

Meiner Mutter gewidmet.

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b> .....	<b>15</b>
<b>1.1. Allgemeines</b> .....	<b>15</b>
<b>1.2. Fremderkennung</b> .....	<b>16</b>
1.2.1. Das HLA-System .....	16
1.2.2. Nicht HLA-Antigene .....	17
<b>1.3. Immunologische Testverfahren</b> .....	<b>17</b>
1.3.1. HLA-Mismatch .....	17
1.3.2. Crossmatch .....	17
1.3.3. PRA (Panel reaktive antibodies) .....	18
1.3.4. Präformierte Antikörper .....	18
1.3.5. DnDSA.....	18
<b>1.4. Das spezifische Immunsystem</b> .....	<b>18</b>
1.4.1. T-Zell-Aktivierung.....	18
<b>1.5. T-Lymphozyten (T-Zellen)</b> .....	<b>19</b>
1.5.1. T-Helferzellen (CD4 <sup>+</sup> T-Zellen) .....	19
1.5.2. Zytotoxische T-Lymphozyten (CD8 <sup>+</sup> T-Zellen) .....	19
<b>1.6. B-Lymphozyten (B-Zelle)</b> .....	<b>20</b>
<b>1.7. Gedächtniszellen</b> .....	<b>20</b>
<b>1.8. Abstoßung</b> .....	<b>20</b>
1.8.1. Akute Abstoßung .....	20
1.8.1.1. Akute T-Zell-vermittelte Abstoßung .....	21
1.8.1.2. Akute Antikörper-vermittelte Abstoßung.....	21
1.8.2. Borderline-Abstoßung.....	21
1.8.3. Chronische Abstoßung .....	22
<b>1.9. Immunsuppressive Therapie</b> .....	<b>22</b>
1.9.1. Induktionstherapie: .....	22
1.9.1.1. Standard-Induktion (Basiliximab): .....	22
1.9.1.2. Rituximab (MabThera®)-Gabe: .....	23
1.9.1.3. Anti-T-Lymphozyten Globuline (ATG)-Induktion (Thymoglobulin®):.....	23
1.9.2. Erhaltungstherapie: .....	23
<b>1.10. Biomarker</b> .....	<b>25</b>
<b>1.11. CD26 (Dipeptidylpeptidase IV)</b> .....	<b>25</b>
1.11.1. Expression .....	25
1.11.2. Struktur .....	26
1.11.3. Marker der T-Zell-Aktivierung .....	26
1.11.4. Kostimulation .....	26
1.11.4.1. DPPiV-Aktivität .....	26
1.11.4.2. ADA .....	27
1.11.4.3. Extrazelluläre Matrix (EZM) .....	28

1.11.5.	Soluble CD26 (sCD26).....	28
1.11.6.	Immunologische Wirkung von CD26 .....	28
<b>1.12.</b>	<b>CD28 .....</b>	<b>29</b>
1.12.1.	Expression.....	29
1.12.2.	CD80 (B7-1) und CD86 (B7-2).....	29
1.12.3.	Wirkungen .....	30
1.12.4.	CD28 und T-Zell-Aktivierung .....	31
1.12.5.	CD28 <sup>null</sup> -T-Zellen.....	31
<b>1.13.</b>	<b>Fragestellung der Studie .....</b>	<b>32</b>
<b>2.</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>34</b>
<b>2.1.</b>	<b>Patienten .....</b>	<b>34</b>
2.1.1.	Rekrutierung der Patienten .....	34
2.1.2.	Aufklärung der Patienten.....	34
2.1.3.	Einschlusskriterien und Ausschlusskriterien .....	35
2.1.4.	Entnahme der Blutproben .....	35
2.1.5.	Gesamtkollektiv .....	35
<b>2.2.</b>	<b>Dokumentation .....</b>	<b>35</b>
2.2.1.	Stammdaten .....	36
2.2.2.	Visitendaten.....	36
2.2.3.	Ereignisse .....	37
2.2.3.1.	Abstoßungen .....	37
2.2.3.2.	Alle Infektionen .....	37
2.2.3.3.	Virale Infektionen.....	37
2.2.3.4.	Kombinierter Endpunkt Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust 37	
2.2.4.	Visiten.....	38
<b>2.3.</b>	<b>Transplantationsarten.....</b>	<b>39</b>
2.3.1.	Leichennierentransplantation .....	39
2.3.2.	Lebendnierentransplantation.....	39
2.3.3.	ABO-inkompatible Lebendnierentransplantation.....	39
<b>2.4.</b>	<b>Induktionen .....</b>	<b>39</b>
2.4.1.	Standard-Induktion (Basiliximab) .....	39
2.4.2.	Rituximab (MabThera®)-Induktion: .....	40
2.4.3.	Antithymozytenglobulin (ATG)-Induktion:.....	40
<b>2.5.</b>	<b>Erhaltungstherapie.....</b>	<b>40</b>
2.5.1.	Standard der immunsuppressiven Therapie .....	40
<b>2.6.</b>	<b>Abstoßung.....</b>	<b>41</b>
<b>2.7.</b>	<b>Laborchemische Untersuchungen .....</b>	<b>42</b>
2.7.1.	Bestimmung der T-Zellsubpopulationen und der Biomarker mittels FACS.....	42
<b>2.8.</b>	<b>Statistik.....</b>	<b>43</b>
2.8.1.	Graphiken .....	43

2.8.2.	Cox-Regression.....	44
2.8.2.1.	Diagnostische Auswertung.....	45
2.8.2.2.	Prädiktive Auswertung.....	45
2.8.3.	Berechnung des AUC-Werts der ROC-Kurve.....	45
2.8.3.1.	Beispiel.....	46
2.8.4.	PR-Kurve (Precision und Recall-Kurve).....	47
2.8.4.1.	Vergleich mit ROC-Kurve.....	47
2.8.4.2.	PR-Kurve.....	48
2.8.5.	Signifikanzniveau.....	48
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>49</b>
<b>3.1.</b>	<b>Das Patientenkollektiv.....</b>	<b>49</b>
<b>3.2.</b>	<b>Klinische Ereignisse - Deskriptive Analyse.....</b>	<b>49</b>
<b>3.3.</b>	<b>Verlauf zirkulierender CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen im Gesamtkollektiv im ersten Jahr nach der Nierentransplantation.....</b>	<b>52</b>
<b>3.4.</b>	<b>Korrelation zwischen den CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen und dem Alter bei Studieneintritt.....</b>	<b>58</b>
3.4.1.	Korrelation zwischen den CD26 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen und dem Alter bei Studieneintritt.....	58
3.4.2.	Korrelation zwischen den CD28 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen und dem Alter bei Studieneintritt.....	58
<b>3.5.</b>	<b>Einfluss des immunologischen Risikos vor der Transplantation auf zirkulierende CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen.....</b>	<b>59</b>
3.5.1.	HLA Mismatch.....	59
3.5.1.1.	CD26 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen.....	59
3.5.1.2.	CD28 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen.....	60
3.5.2.	Patienten mit PRA vs. Patienten ohne PRA.....	61
3.5.2.1.	CD26 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen.....	61
3.5.2.2.	CD28 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen.....	61
3.5.3.	Lebendnierenspende vs. Leichennierenspende.....	63
3.5.3.1.	CD26 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen.....	63
3.5.3.2.	CD28 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen.....	65
3.5.4.	Präemptive vs. nicht präemptive Nierentransplantation.....	65
3.5.5.	Präformierte Antikörper.....	66
3.5.5.1.	CD26 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen.....	66
3.5.5.2.	CD28 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen.....	66
3.5.6.	ABO-Inkompatibilität.....	68
3.5.7.	Hochrisiko-Patienten.....	68
<b>3.6.</b>	<b>Einfluss der Induktionstherapie auf zirkulierende CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen.....</b>	<b>69</b>
3.6.1.	Vergleich der Rituximab-Gabe mit der Standard-Induktion.....	69
3.6.2.	Vergleich der Standard-Induktion mit der ATG-Induktion.....	69
3.6.2.1.	CD26 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen.....	69

3.6.2.2.	CD28 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen .....	70
<b>3.7.</b>	<b>Assoziation klinischer Ereignisse nach der Transplantation mit zirkulierenden CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen .....</b>	<b>74</b>
3.7.1.	DGF .....	74
3.7.2.	DnDSA.....	74
<b>3.8.</b>	<b>Korrelation der Biomarker CD26 und CD28 auf den verschiedenen T-Zellsubpopulationen zur Steroiddosis und der Konzentration von MPA und Tacrolimus</b>	<b>76</b>
<b>3.9.</b>	<b>Deskriptiver Vergleich der Verläufe der Biomarker zwischen Patienten mit und ohne einem klinischen Ereignis.....</b>	<b>79</b>
3.9.1.	Abstoßungsreaktion.....	80
3.9.2.	Alle Infektionen: .....	81
3.9.3.	Virale Infektionen: .....	83
3.9.4.	Kombinierter Endpunkt Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust.....	84
<b>3.10.</b>	<b>Diagnostische und prädiktive Aussagekraft der Biomarker .....</b>	<b>85</b>
3.10.1.	Diagnostische Auswertung .....	87
3.10.1.1.	Signifikantes Ergebnis im Detail: .....	88
3.10.2.	Prädiktive Auswertung.....	89
3.10.3.	AUC (Area under curve) der prädiktiven Auswertung .....	91
3.10.3.1.	Abstoßungen .....	91
3.10.3.2.	Alle Infektionen .....	91
3.10.3.3.	Virale Infektionen.....	92
3.10.3.4.	Kombinierter Endpunkt Transplantatverlust und Funktionsverschlechterung	92
3.10.4.	ROC-Analyse der CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Gedächtniszellen für das Ereignis virale Infektionen .....	93
<b>4.</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>96</b>
<b>4.1.</b>	<b>Verlauf der CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen über 12 Monate (±1Mo) im Gesamtkollektiv nach einer Nierentransplantation .....</b>	<b>96</b>
4.1.1.	Verlauf CD26 exprimierender CD4 <sup>+</sup> und CD8 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen.....	96
4.1.2.	Verlauf der CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulation .....	96
4.1.3.	Verlauf der CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen .....	98
4.1.4.	Verlauf der CD26 <sup>+</sup> und CD28 <sup>+</sup> T-Gedächtniszellen.....	99
4.1.4.1.	CD26 Expression bei T-Gedächtniszellen.....	99
4.1.4.2.	CD28 Expression bei T-Gedächtniszellen.....	100
<b>4.2.</b>	<b>Einfluss immunologischer Faktoren auf zirkulierende CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen im Vergleich.....</b>	<b>101</b>
4.2.1.	Vergleich zwischen Patienten mit drei oder weniger HLA Mismatches und Patienten mit mehr als drei HLA Mismatches .....	101
4.2.2.	Vergleich zwischen Patienten mit und ohne PRA .....	103
4.2.3.	Vergleich zwischen Patienten mit Lebendnierentransplantation und Patienten mit Leichennierentransplantation .....	103
4.2.4.	Vergleich zwischen Patienten mit und ohne präemptiver Nierentransplantation	104

4.2.5.	Vergleich zwischen Patienten mit und ohne präformierte Antikörper .....	105
4.2.6.	Vergleich zwischen Patienten mit und ohne ABO-inkompatibler Nierentransplantation .....	105
4.2.7.	Vergleich zwischen Patienten mit und ohne Hochrisikokonstellation .....	106
<b>4.3.</b>	<b>Einfluss der Induktionstherapie auf zirkulierende CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen .....</b>	<b>106</b>
4.3.1.	Vergleich zwischen Patienten mit Standard-Induktion und Rituximab-Gabe....	106
4.3.2.	Vergleich zwischen Patienten mit ATG-Induktion und Standard-Induktion.....	107
4.3.2.1.	CD26 Expression bei CD4 <sup>+</sup> -und CD8 <sup>+</sup> T-Zellen .....	108
4.3.2.2.	CD28 Expression bei CD4 <sup>+</sup> T-Zellen.....	108
4.3.2.3.	CD28 Expression bei CD8 <sup>+</sup> T-Zellen.....	109
4.3.2.4.	Gedächtniszellen .....	111
<b>4.4.</b>	<b>Assoziation klinischer Ereignisse nach der Transplantation mit zirkulierenden CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen .....</b>	<b>113</b>
4.4.1.	Vergleich zwischen Patienten mit und ohne DGF .....	113
4.4.2.	Vergleich zwischen Patienten mit und ohne dnDSA .....	113
<b>4.5.</b>	<b>Weitere Beobachtungen .....</b>	<b>115</b>
<b>4.6.</b>	<b>Korrelation der Biomarker CD26 und CD28 auf den verschiedenen T-Zellsubpopulationen zur Steroiddosis und der Konzentration von MPA und Tacrolimus</b>	<b>116</b>
<b>4.7.</b>	<b>Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Anzahl CD26 exprimierender T-Zellsubpopulationen und dem Ereignis Abstoßung?.....</b>	<b>118</b>
<b>4.8.</b>	<b>Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Anzahl CD28 exprimierender T-Zellsubpopulationen und dem Ereignis Abstoßung?.....</b>	<b>120</b>
<b>4.9.</b>	<b>Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Anzahl CD26 oder CD28 exprimierender T-Zell-Gedächtniszellen und dem Ereignis Abstoßung? .....</b>	<b>124</b>
<b>4.10.</b>	<b>Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Anzahl CD26 exprimierender T-Zellsubpopulationen und dem Ereignis Infektionen? .....</b>	<b>125</b>
4.10.1.	Alle Infektionen.....	125
4.10.2.	Virale Infektionen.....	125
<b>4.11.</b>	<b>Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Anzahl CD28 exprimierender T-Zellsubpopulationen und dem Ereignis Infektionen? .....</b>	<b>127</b>
<b>4.12.</b>	<b>Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Anzahl CD28 exprimierender CD4<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen und dem Ereignis virale Infektionen? .....</b>	<b>128</b>
<b>4.13.</b>	<b>Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Anzahl CD26 und CD28 exprimierender T-Zellsubpopulationen und dem kombinierten Endpunkt Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust?.....</b>	<b>130</b>
<b>5.</b>	<b>Fazit und Limitationen der Studie.....</b>	<b>132</b>
5.1.	CD26 .....	133
5.2.	CD28 .....	133
<b>6.</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>135</b>
<b>7.</b>	<b>Ausblick.....</b>	<b>135</b>
<b>8.</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>137</b>
<b>9.</b>	<b>Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift.....</b>	<b>168</b>



10. Danksagung ..... 169

## Abbildungen

<b>Abbildung 1:</b> Fiktives Beispiel für einen Baumalgorithmus. In der Regel wird ein Baumalgorithmus umso genauer, je mehr "Blätter", d.h. Aufzweigungen er besitzt.....	47
<b>Abbildung 2:</b> Relativer Anteil der Ereignisse und der dnDSA (=DSA) zum Zeitpunkt der Visiten .....	50
<b>Abbildung 3:</b> Anzahl der Ereignisse und das Vorhandensein von dnDSA zum Zeitpunkt der Visiten .....	50
<b>Abbildung 4:</b> Anzahl mehrerer gleichzeitig auftretender Ereignisse. ....	51
<b>Abbildung 5:</b> Heat map zu den dokumentierten dnDSA-Werten.....	52
<b>Abbildung 6:</b> Verlauf der Medianwerte der anteilmäßigen CD26 Expression der CD4 <sup>+</sup> T-Zellen im Gesamtkollektiv über 12 Monate ( $\pm 1$ Monat). W=Woche, M=Monat. ....	53
<b>Abbildung 7:</b> Verlauf der Medianwerte der anteilmäßigen CD26 Expression der CD8 <sup>+</sup> T-Zellen im Gesamtkollektiv über 12 Monate ( $\pm 1$ Monat). W=Woche, M=Monat. ....	53
<b>Abbildung 8:</b> Verlauf der Medianwerte der anteilmäßigen CD26 Expression der CD4 <sup>+</sup> T-Gedächtniszellen im Gesamtkollektiv über 12 Monate ( $\pm 1$ Monat). W=Woche, M=Monat.....	54
<b>Abbildung 9:</b> Verlauf der Medianwerte der anteilmäßigen CD26 Expression der CD8 <sup>+</sup> T-Gedächtniszellen im Gesamtkollektiv über 12 Monate ( $\pm 1$ Monat). W=Woche, M=Monat.....	55
<b>Abbildung 10:</b> Verlauf der Medianwerte der anteilmäßigen CD28 Expression der CD4 <sup>+</sup> T-Zellen im Gesamtkollektiv über 12 Monate ( $\pm 1$ Monat). W=Woche, M=Monat. ....	55
<b>Abbildung 11:</b> Verlauf der Medianwerte der anteilmäßigen CD28 Expression der CD8 <sup>+</sup> T-Zellen im Gesamtkollektiv über 12 Monate ( $\pm 1$ Monat). W=Woche, M=Monat. ....	56
<b>Abbildung 12:</b> Verlauf der Medianwerte der anteilmäßigen CD28 Expression der CD4 <sup>+</sup> T-Gedächtniszellen im Gesamtkollektiv über 12 Monate ( $\pm 1$ Monat). W=Woche, M=Monat.....	57
<b>Abbildung 13:</b> Verlauf der Medianwerte der anteilmäßigen CD28 Expression der CD8 <sup>+</sup> T-Gedächtniszellen im Gesamtkollektiv über 12 Monate ( $\pm 1$ Monat). W=Woche, M=Monat.....	57
<b>Abbildung 15:</b> Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD8 <sup>+</sup> CD26 <sup>+</sup> T-Gedächtniszellen zwischen Patienten mit einem HLA-Mismatch $>3$ und Patienten mit einem HLA-Mismatch $\leq 3$ . W=Woche, M=Monat, n=Anzahl. ....	60
<b>Abbildung 16:</b> Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Zellen zwischen Patienten mit PRA (=PRA $>15\%$ ) und ohne PRA. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl. ....	62
<b>Abbildung 17:</b> Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Zellen zwischen Patienten mit PRA (=PRA $>15\%$ ) und ohne PRA. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl. ....	62
<b>Abbildung 18:</b> Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Gedächtniszellen zwischen Patienten mit PRA (=PRA $>15\%$ ) und ohne PRA. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl. ..	63
<b>Abbildung 19:</b> Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD8 <sup>+</sup> CD26 <sup>+</sup> T-Zellen zwischen Patienten mit einer Leichennierenspende und Patienten mit einer Lebendnierenspende. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl. ....	64
<b>Abbildung 20:</b> Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD8 <sup>+</sup> CD26 <sup>+</sup> T-Gedächtniszellen zwischen Patienten mit einer Leichennierenspende und Patienten mit einer Lebendnierenspende. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl. ....	65
<b>Abbildung 21:</b> Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Zellen zwischen Patienten mit und ohne präformierte Antikörper. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl. ....	66
<b>Abbildung 22:</b> Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Zellen zwischen Patienten mit und ohne präformierten Antikörpern. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl. ....	67
<b>Abbildung 23:</b> Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Gedächtniszellen zwischen Patienten mit und ohne präformierten Antikörpern. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl.	68

<b>Abbildung 24:</b> Vergleich der Medianwerte der zirkulierenden CD8 <sup>+</sup> CD26 <sup>+</sup> T-Zellen zwischen der Standard-Induktion (Basiliximab) und der ATG-Induktion. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl. ....	70
<b>Abbildung 25:</b> Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Zellen zwischen der Standard-Induktion (Basiliximab) und der ATG-Induktion. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl. ....	71
<b>Abbildung 26:</b> Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Zellen zwischen der Standard-Induktion (Basiliximab) und der ATG-Induktion. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl. ....	71
<b>Abbildung 27:</b> Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Gedächtniszellen zwischen der Standard-Induktion (Basiliximab) und der ATG-Induktion. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl. ....	72
<b>Abbildung 28:</b> Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Gedächtniszellen zwischen der Standard-Induktion (Basiliximab) und der ATG-Induktion. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl. ....	73
<b>Abbildung 29:</b> Vergleich zirkulierender CD4 <sup>+</sup> CD26 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen zwischen Patienten mit und ohne dnDSA. Aufgrund der geringen Anzahl der Patienten mit dnDSA konnten keine 95%Konfidenzintervalle (KI) erstellt werden. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl. ....	75
<b>Abbildung 30:</b> Vergleich zirkulierender CD4 <sup>+</sup> CD26 <sup>+</sup> T-Gedächtniszellsubpopulationen zwischen Patienten mit und ohne dnDSA. Aufgrund der geringen Anzahl der Patienten mit dnDSA konnten keine 95% Konfidenzintervalle (KI) erstellt werden. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl..	76
<b>Abbildung 31:</b> Korrelationen (p<0,05) zwischen CD26 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen und der Steroiddosis.....	77
<b>Abbildung 32:</b> Positive Korrelationen (p<0,05) zwischen CD28 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen und der Steroiddosis.....	78
<b>Abbildung 33:</b> Korrelationen (p<0,05) zwischen CD26 <sup>+</sup> und CD28 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen (Mittelwert) und der gemessenen MPA-Konzentraion (Talspiegel) im Serum (mg/l).....	79
<b>Abbildung 34:</b> Vergleich der T-Zellsubpopulationen zwischen Patienten mit und ohne einer Abstoßungsreaktion. Der Verlauf zeigt den Median der T-Zellsubpopulation mit der 0.25- und 0.75-Perzentile (Schattierung).....	81
<b>Abbildung 35:</b> Vergleich der T-Zellsubpopulationen zwischen Patienten mit und ohne dem Ereignis alle Infektionen. Der Verlauf zeigt den Median der T-Zellsubpopulation mit der 0.25- und 0.75-Perzentile (Schattierung). ....	82
<b>Abbildung 36:</b> Vergleich der T-Zellsubpopulationen zwischen Patienten mit und ohne dem Ereignis virale Infektionen. Der Verlauf zeigt den Median der T-Zellsubpopulation mit der 0.25- und 0.75-Perzentile (Schattierung). ....	84
<b>Abbildung 37:</b> Vergleich der T-Zellsubpopulationen zwischen Patienten mit und ohne dem Ereignis kombinierter Endpunkt Transplantatverschlechterung und Transplantatverlust. Der Verlauf zeigt den Median der T-Zellsubpopulation mit der 0.25- und 0.75-Perzentile (Schattierung). ....	85
<b>Abbildung 38:</b> ROC-Kurve und PR-Kurve der CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Gedächtniszellen für das Ereignis virale Infektionen. ....	93
<b>Abbildung 39:</b> ROC-Kurve und PR-Kurve des Alters bei Studienantritt für das Ereignis virale Infektionen. ....	94
<b>Abbildung 40:</b> Einfluss ausgewählter Merkmale („Features“) auf die Vorhersage des Auftretens viraler Infektionen. T2e=time to event. ....	95

## Tabellen

Tabelle 1: Ein- und Ausschlusskriterien der Studie.....	35
Tabelle 2: Definition der Visiten und Definition der zusammengelegten Visiten.....	38
Tabelle 3: Ziel-Talspiegel von Tacrolimus nach der Nierentransplantation. ....	41
Tabelle 4: Verwendete Antikörper in der FACS-Analyse. ....	42
Tabelle 5: Aufzählung der Ereignisse, die in der Cox-Regression betrachtet wurden.....	44
Tabelle 6: Die Biomarker und die klinischen Variablen gingen als Prädiktoren in die Cox-Regression ein.....	45
Tabelle 7: Eigenschaften des Patientenkollektivs der Studie. ....	49
Tabelle 8: Korrelationen zwischen den CD26 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen und dem Alter bei Studieneintritt.....	58
Tabelle 9: Korrelationen zwischen den CD28 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen und dem Alter bei Studieneintritt.....	59
Tabelle 10: Vergleich der T-Zellsubpopulationen zwischen der Standard-Induktion (Basiliximab) und der ATG-Induktion. ....	74
Tabelle 11: Korrelationen (p<0,05) zwischen CD26 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen und der Steroiddosis .....	76
Tabelle 12: Korrelationen (p<0,05) zwischen CD28 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen und der Steroiddosis. ....	77
Tabelle 13: Korrelationen (p<0,05) zwischen CD26 <sup>+</sup> und CD28 <sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen und der gemessenen MPA-Konzentration (Talspiegel) im Serum (mg/l).....	78
Tabelle 14: Korrelationen (p<0,05) zwischen CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Gedächtniszellen und dem gemessenen Tacrolimus (Talspiegel) im Serum (µg/l) .....	79
Tabelle 15: Übersicht über die Observationen (in die Cox-Regression eingeschlossenen Patienten) und Anzahl der Ereignisse bei den eingeschlossenen Patienten.....	86
Tabelle 16: Die Ergebnisse der Cox-Regression der diagnostisch gemessenen zirkulierenden CD26 und CD28 positiven T-Zellsubpopulationen bei den jeweiligen Ereignissen. HR-Hazard Ratio, Lower=unteres 95% Konfidenzintervall, Upper=oberes 95% Konfidenzintervall, p=statistische Signifikanz .....	87
Tabelle 17: Signifikantes Ergebnis der diagnostischen Cox-Regressionsanalyse für die CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Gedächtniszellen für das Ereignis virale Infektionen im Detail.Low=unterer Wert der Kovariante, High=oberer Wert der Kovariante, Diff=Differenz zwischen oberem und unterem Wert der Kovariante, Effect=Hazard Ratio, Lower0.95=unteres 95%Konfidenzintervall, Upper0.95=oberes 95% Konfidenzintervall, p=statistische Signifikanz. ....	89
Tabelle 18: Die Ergebnisse der Cox-Regression der prädiktiv gemessenen zirkulierenden CD26 und CD28 positiven T-Zellsubpopulationen bei den jeweiligen Ereignissen. HR=Hazard Ratio, Lower=unteres 95% Konfidenzintervall, Upper=oberes 95% Konfidenzintervall, p=statistische Signifikanz. ....	90
Tabelle 19: AUC-Werte der T-Zellsubpopulationen für das Ereignis Abstoßungen. ....	91
Tabelle 20: AUC-Werte der T-Zellsubpopulationen für das Ereignis alle Infektionen.....	91
Tabelle 21: AUC-Werte der T-Zellsubpopulationen für das Ereignis virale Infektionen.....	92
Tabelle 22: AUC-Werte der T-Zellsubpopulationen für den kombinierten Endpunkt Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust.....	92
Tabelle 23: Zusammenfassung der auffälligsten Veränderungen der Biomarkerexpression zwischen Patienten mit und ohne PRA, präformierten Antikörpern und ATG-Induktion.....	116

## Abkürzungsverzeichnis

ABMR	Antibody-Mediated Rejection
Ag	Antigen
ALT	Alanin-Aminotransferase
APC	Antigenpräsentierende Zelle
AS	Aminosäure
AST	Aspartat-Aminotransferase
ATG	Antithymoglobulin
AUC	Area under curve
BKV	Humanes Polyomavirus 1
CD	Cluster of Differentiation
CK	Creatinin-Kinase
CMV	Cytomegalievirus
CTLA-4	Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4
DnDSA	De novo donorspezifische Antikörper
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DPPIV	Dipeptidylpeptidase IV
EBV	Epstein-Barr-Virus
EZM	Extrazellulärmatrix
FACS	Fluorescence-Activated Cell Sorting, Durchflusszytometrie
GK	Glukokortikoide
GLP-1	Glukagon-like Peptide 1
GR	Glukokortikoid-Rezeptor
HIV	Humane Immundefizienz-Virus
HLA	Humanes Leukozytenantigen
HPLC	High Performance Liquid Chromatography, Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HR	Hazard ratio
HSV	Herpes-simplex-Virus
Ig	Immunglobulin
IL-2	Interleukin 2
IMPDH	Inosinmonophosphat-Dehydrogenase
KI	Konfidenzintervall
LC-MS/Ms	Liquid-Chromatographie-Massenspektrometrie/Massenspektrometrie
M	Monat
mAb	Monoklonale Antikörper
MPS	Mycophenolsäure
NK	Natürliche Killerzellen
PRA	Panel Reactive Antibody
RNS	Ribonukleinsäure

sCD26	Soluble CD26
SCID	Severe Combined Immunodeficiency
SLE	Systemischer Lupus erythematoses
TCM	Central Memory T Cell
TCMR	T Cell-Mediated Rejection
TEM	Effector Memory T Cell
TfH	Follikuläre T- Helferzelle
Th	T-Helferzelle
Treg	Regulatorische T-Zelle
TSH	Thyreotropin = Thyreoidea-stimulierendes Hormon
V	Visite
vPRA	Virtual Panel Reaktive Antibody
VZV	Varizella-Zoster-Virus
W	Woche

## **1. Einleitung**

### **1.1. Allgemeines**

Ende September 2020 standen 7.002 Personen auf der Eurotransplant-Warteliste für eine Nierentransplantation (1). Doch es gibt weniger Leichennierenspenden als Bedarf besteht. Somit stellt auch die Lebendnierentransplantation von genetisch verwandten oder nicht verwandten Spendern eine weitere, meist schnellere Möglichkeit dar, eine Spenderniere zu erhalten. Voraussetzung ist, dass ein gesunder Spender bereit ist eine Niere zu spenden (2).

Doch sowohl bei einer Lebend- wie auch bei einer Leichennierentransplantation findet die Transplantation zwischen zwei genetisch unterschiedlichen Personen statt. Das führt dazu, dass die transplantierte Niere vom Immunsystem des Empfängers als "fremd" erkannt wird und verschiedene Mechanismen in Gang gesetzt werden, um dieses körperfremde Organ zu zerstören.

Um das zu verhindern, wird das Immunsystem des Empfängers mit immunsuppressiven Medikamenten unterdrückt. Anfangs erhält der Empfänger hohe Dosen an Immunsuppressiva, im Verlauf kann die Dosis einiger Immunsuppressiva an die Körpergröße und das Körpergewicht angepasst und auch die Medikamentenspiegel im Blut kontrolliert werden (3).

Für Nierentransplantatempfänger ist es lebenswichtig, dass das Immunsystem in einer feinen Balance gehalten wird, da eine Überimmunsuppression zu Infekten und Tumorbildungen führen kann (4), andererseits eine zu schwache Immunsuppression Abstoßungsreaktionen und die Bildung von de novo donorspezifischen Antikörpern (dnDSA) begünstigen kann (5). Jede dieser Komplikationen kann zu schweren Schäden an der transplantierten Niere bis hin zu ihrem Verlust führen, eine verheerende Vorstellung für den Patienten.

Obwohl es so wichtig ist, dass das Immunsystem in dieser feinen Balance gehalten wird gibt es bis heute keinen verlässlichen Marker der anzeigen kann, in welchem Status sich das Immunsystem gerade befindet, d.h. ob es tendenziell zu stark oder zu schwach supprimiert wird. Erst wenn

Komplikationen auftreten wie z.B. eine Funktionsverschlechterung der Niere, Infektionen oder Abstoßungen kann man erkennen, dass die "standardisierte Immunsuppression" für den individuellen Patienten zu stark oder zu schwach war.

Biomarker auf Immunzellen können eine neue Möglichkeit sein, den Status des Immunsystems zu ermitteln und zu kontrollieren.

## **1.2. Fremderkennung**

### **1.2.1. Das HLA-System**

Ein Grund, warum das Immunsystem die transplantierte Niere als fremd identifizieren kann liegt in der Expression von humanen Leukozytenantigen-Komplexen (HLA). Fast jede kernhaltige Körperzelle exprimiert auf ihrer Oberfläche HLA-I-Komplexe (HLA-A,-B,-C). Alle APCs (Antigen-präsentierenden Zellen) exprimieren zusätzlich HLA-II-Komplexe (HLA-DP/DQ/DR, DN/DO) (6).

Polymorphismus sowie Rekombinationen (7) führen dazu, dass jeder Mensch, abgesehen von genetisch identischen Zwillingen, seine ganz individuellen HLA-Komplexe hat, ähnlich wie ein Fingerabdruck. Eine transplantierte Niere wird daher auf jeder ihrer Zellen und auf jeder ihrer APCs teilweise andere HLA-Komplexe aufweisen als die Zellen des Empfängers. Diese können dann als fremd erkannt werden. Je ähnlicher die HLA von Spender und Empfänger sind, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass das Transplantat besser angenommen wird (8–10), und dass weniger Komplikationen auftreten werden. Die Übereinstimmung der HLA von Spender und Empfänger und ob der Empfänger bereits vor der Transplantation Antikörper (Ak) gegen die HLA des Spenders hat wird u.a. mittels HLA-Mismatch, PRA (Panel Reactive Antibody) und Crossmatch vor der Transplantation getestet und definiert mit das immunologische Risiko der Transplantation (11; 12).



### **1.2.2. Nicht HLA-Antigene**

Neben den HLA-Antigenen gibt es weitere Antigene auf den Zellen oder dem Gewebe des Spenders, gegen die der Empfänger Antikörper bilden kann. HLA aber ist am bedeutendsten (13).

### **1.3. Immunologische Testverfahren**

Um das immunologische Risiko einer Transplantation zu erfassen stehen verschiedene Testverfahren zur Verfügung.

#### **1.3.1. HLA-Mismatch**

Das HLA-Mismatch zeigt, wie viele HLA-Antigene von Spender und Empfänger nicht übereinstimmen. Je höher die Anzahl der Mismatches ist, desto höher ist das immunologische Risiko für Abstoßungsreaktionen (14). Nicht jedes HLA-Antigen Mismatch hat den gleichen immunologischen Effekt und auch der Zeitpunkt zu dem ein HLA-Mismatch das immunologische Risiko erhöht variiert (15). HLA-DR und weniger ausgeprägt HLA-B und HLA-A haben einen bedeutenden Einfluss auf die Transplantatakzeptanz des Empfängers (15).

#### **1.3.2. Crossmatch**

Ziel des Crossmatch ist es, Antikörper beim Empfänger zu detektieren, die gegen Spender-Lymphozyten bzw. Spender-HLA gerichtet sind und zu einer hyperaktiven Abstoßungsreaktion führen. Hierbei werden das Serum des Empfängers mit potentiellen Anti-HLA-Antikörpern mit den Lymphozyten des Spenders inkubiert (16). Reagieren nach Zugabe von Komplement donor-spezifische Anti-HLA-Antikörper des Empfängers mit den HLA-Antigenen (Ag) auf den Lymphozyten des Spenders kommt es zu einer Lyse der Lymphozyten. Als positiv gilt der Test ab einer Lyse von 20% der Lymphozyten (16; 17).

Bei einem positiven Crossmatch ist eine Nierentransplantation in der Regel kontraindiziert, da eine hyperakute Abstoßung droht. Eine Nierentransplantation trotz positivem Crossmatch ist risikoreich (18).

### **1.3.3. PRA (*Panel reaktive antibodies*)**

Alle Patienten auf der Warteliste werden in vorgegebenen Abständen auf das Vorhandensein von PRA getestet. Ähnlich wie beim Crossmatch wurde ursprünglich das Serum des potentiellen Empfängers mit Lymphozyten aus der Allgemeinbevölkerung inkubiert. Je mehr Antikörper vorhanden sind, desto höher ist das Risiko für eine humorale Abstoßungsreaktion einer zukünftigen Nierentransplantation. PRA können sich durch Immunreaktionen in der Vergangenheit gebildet haben wie z.B. Bluttransfusionen oder Schwangerschaften. Heutzutage wird der PRA-Wert errechnet. Das Rechenprogramm nutzt zur Berechnung die HLA-Verteilung der Donorpopulation von Eurotransplant aus den Jahren 2010-2014 (n=6870) (19; 20).

### **1.3.4. Präformierte Antikörper**

Unter präformierten Antikörper werden alle Antikörper subsummiert, die vor der Transplantation gemessen werden können. Diese Antikörper können donorspezifisch sein oder nicht. Auch ihre immunologische Relevanz ist heterogen.

### **1.3.5. DnDSA**

Antikörper die sich erst nach der Nierentransplantation gebildet haben und gegen Spender-HLA gerichtet sind werden als dnDSA gezeichnet (21). Das Auftreten von dnDSA nach einer Nierentransplantation ist assoziiert mit einem schlechteren Transplantatüberleben (13), schlechterer Transplantatfunktion und Abstoßungsreaktionen (22; 23).

## **1.4. Das spezifische Immunsystem**

Zum spezifischen Immunsystem gehören die T-Zellen (zelluläre Immunabwehr) und die B-Zellen (humorale Immunabwehr).

### **1.4.1. T-Zell-Aktivierung**

Passt per Zufall die variable Region des TCR und das präsentierte Ag wie beim Schlüssel-Schloss-Prinzip zueinander, dann identifiziert die T-Zelle das präsentierte Peptid als körperfremd. Das ist das erste Signal der T-Zell-

Aktivierung und führt dazu, dass die T-Zelle teilaktiviert wird. Meistens benötigt eine T-Zelle noch ein zweites Signal um vollständig aktiviert zu werden. Dieses zweite Signal kann durch z.B. Zytokine oder kostimulatorische Moleküle erfolgen. Das erste Signal ist demnach Antigen spezifisch, das zweite Signal ist Antigen unspezifisch (24; 25).

Erhält eine T-Zelle nur das erste Signal, kann dies zur Hyporeaktivität oder Anergie führen (26). Anergie bedeutet, dass eine T-Zelle nicht aktiviert wird, obwohl sie durch das passende Antigen teilaktiviert wurde. Diese doppelte Kontrolle schützt den Körper vor Autoimmunreaktionen, da ein kleiner Anteil autoreaktiver T-Zellen den Thymus verlässt.

### **1.5. T-Lymphozyten (T-Zellen)**

Es gibt eine Vielzahl von T-Zellsubpopulationen. Sie lassen sich aufgrund ihrer Oberflächenmoleküle mittels FACS (27–29) und dem sezernierten Zytokinmuster identifizieren. Zu ihnen gehören u.a.:

#### **1.5.1. T-Helferzellen (CD4<sup>+</sup>T-Zellen)**

T-Helferzellen (Th) sind CD4<sup>+</sup> T-Zellen.

T-Helferzellen Typ1 (Th1) sezernieren Proteine wie IL-2(Interleukin) und IFN- $\gamma$ (Interferon) (30) die zu einer zellulären Immunantwort führen (31).

T-Helferzellen Typ2 (Th2) induzieren eine humorale Immunantwort (32). Sie sezernieren Zytokine wie z.B. IL-4, IL-5, IL-13 und TNF- $\alpha$  (33).

Dadurch werden B-Zellen zur Ak-Produktion angeregt.

#### **1.5.2. Zytotoxische T-Lymphozyten (CD8<sup>+</sup> T-Zellen)**

Naive CD8<sup>+</sup>T-Zellen treten über ihren TCR/CD8-Komplex permanent in Kontakt mit HLA-I-Molekülen und den darüber präsentierten Peptiden (34). Werden sie aktiviert sind sie in der Lage, ihre Zielzellen zu zerstören. Ein Mechanismus ist die Sekretion von Perforinen und Granzymen ins Innere der Zielzelle oder der Fas/FasL-Weg (35).

## **1.6. B-Lymphozyten (B-Zelle)**

B-Zellen gehören zur humoralen Immunabwehr. Sie können durch extrazelluläre Antigene, welche sie mit ihrem BZR (B-Zell-Rezeptor) erkennen, teilaktiviert werden. Das gebundene Antigen wird durch Endozytose aufgenommen, intrazellulär zerkleinert und über HLA-II präsentiert. Wird diese B-Zelle durch z.B. eine CD4<sup>+</sup>T-Zellen vollständig aktiviert, entwickelt sie sich zu einer Antikörper produzierenden Plasmazelle, deren Antikörper zur Zerstörung des Transplantats führen können (36).

## **1.7. Gedächtniszellen**

Wenn aktivierte B- oder T- Zellen proliferieren, entstehen Gedächtniszellen bzw. Gedächtniszellpopulationen (37). Sie führen bei einem erneuten Kontakt mit dem von ihnen erkannten Ag zu einer schnelleren und stärkeren Immunantwort (38). Bei den T-Gedächtniszellen unterscheidet man u.a. die zentralen T-Gedächtniszellen (=TCM=central memory T cells, CCR7<sup>+</sup>, CD62L<sup>hi</sup>) und die Effektor T-Gedächtniszellen (TEM= effector memory T cells, CCR7<sup>-</sup>, CD62L<sup>lo</sup>) (37). Um naive T-Zellen von T-Zell-Gedächtniszellen unterscheiden zu können, kann CD45 auf der T-Zell Oberfläche gemessen werden. CD45 ist eine Tyrosinphosphatase und kommt in zwei unterschiedlichen Isoformen vor: RA und RO. Die meisten naiven und Effektor T-Zellen exprimieren RA, die meisten Gedächtniszellen RO (39).

## **1.8. Abstoßung**

Erfolgt eine Nierentransplantation nicht zwischen zwei genetisch identischen Personen, so wird zwangsläufig früher oder später das Immunsystem aktiviert, da patroulierende Immunzellen körperfremde Peptide erkennen (13).

### **1.8.1. Akute Abstoßung**

Akute Abstoßungsreaktionen können in T-Zell vermittelte Abstoßungen (TCMR) und Antikörper-vermittelte Abstoßungsreaktionen (ABMR, humorale Abstoßung) unterteilt werden (40). TCMR und ABMR können bei einer Abstoßungsreaktion koexistieren. Mit einer Nierenbiopsie können TCMR und ABMR erkannt und unterschieden werden. Abstoßungsreaktionen werden

anhand der BANFF-Kriterien eingeteilt. Entsprechend der Biopsie wird eine geeignete Therapie eingeleitet.

#### 1.8.1.1. Akute T-Zell-vermittelte Abstoßung

Naive T-Zellen werden über verschiedene Wege aktiviert und führen zur Zerstörung des Transplantats. Beim direkten Weg präsentieren APCs des Spenders, die im Transplantat vorhanden sind Peptide an die T-Zellen des Empfängers (41; 26). Beim indirekten Weg werden Bestandteile des Transplantats von den APCs des Empfängers erkannt, prozessiert und an die T-Zellen des Empfängers präsentiert (42; 41).

CD4<sup>+</sup>T-Zellen können die Immunantwort verstärken, indem sie CD8<sup>+</sup>T-Zellen und B-Zellen aktivieren. Wenn eine B-Zelle zur Plasmazelle aktiviert wird und Ak, die gegen das Transplantat gerichtet sind produziert, entstehen dnDSA (43). Zudem kann es zur Bildung von Gedächtniszellen kommen. Auf weitere Aktivierungswege (Complement) wird nicht eingegangen.

#### 1.8.1.2. Akute Antikörper-vermittelte Abstoßung

Bei der humoralen Abstoßung kommt es zur Bildung von Antikörpern, die gegen das Transplantat gerichtet sind. Solche Antikörper können beispielsweise gegen das HLA-System oder die Blutgruppen-Antigene gerichtet sein und aufgrund hoher PRA-Werte entstehen (44; 5). Das Vorhandensein von C4d deutet auf eine humorale Abstoßung hin (45–47). Zudem können präformierte Antikörper oder dnDSA, die sich nach der Transplantation entwickeln, zu einer humoralen Abstoßung führen (5).

### **1.8.2. *Borderline-Abstoßung***

Als Borderline-Abstoßung werden Zeichen einer Abstoßungsreaktion der Transplantatniere bezeichnet wie z.B. eine milde Tubulitis oder intestinale Entzündungszeichen, die jedoch nicht das Bild einer zellulären Abstoßungsreaktion nach BANFF-Kriterien erreichen (48).

### **1.8.3. Chronische Abstoßung**

Bei der chronischen Abstoßung spielen unterschiedliche Faktoren eine Rolle, die noch nicht vollkommen verstanden werden (49–51). Es sind sowohl T- als auch B-Zellen beteiligt. Durch permanenten Kontakt des Immunsystems mit dem Transplantat kommt es immer wieder zu kleineren Entzündungen und Fibrosierungen, welche die Transplantatfunktion einschränken können (52). Da der Kontakt zwischen dem Immunsystem und transplantierten Zellen in den Blutgefäßen besteht, sind oft die Gefäße mit betroffen, was als Transplantat-Vaskulopathie bezeichnet wird (53). An Zeitpunkten zu niedriger Immunsuppression können T-Zellen aktiviert werden und das Transplantat angreifen, zudem wird die Bildung von dnDSA erleichtert (54; 55). Auch das Complement-System im Blut kann aktiviert werden und Infekte können durch die ausgelöste Immunantwort zu Schäden am Transplantat führen. Therapeutisch wird auch hier versucht, die Immunsuppression zu erhöhen, leider mit deutlich weniger Erfolg als bei akuten Abstoßungsreaktionen (56; 57). Nicht zu vernachlässigen sind auch die nicht immunologischen Mechanismen, die zu chronischem Funktionsverlust der Transplantatniere führen können wie z.B. ein unzureichend behandelter Bluthochdruck oder Medikamententoxizität (58).

## **1.9. Immunsuppressive Therapie**

Um Abstoßungen zu verhindern, sind nierentransplantierte Patienten auf die Einnahme von immunsuppressiven Medikamenten angewiesen.

### **1.9.1. Induktionstherapie:**

Mit der Induktionstherapie wird das Immunsystem während der Nierentransplantation unterdrückt.

#### **1.9.1.1. Standard-Induktion (Basiliximab):**

Die Standard-Induktion wird mit Basiliximab durchgeführt. Basiliximab ist ein monoklonaler Antikörper, der den IL-2 (Interleukin-2) Rezeptor hemmt. Der IL-2 Rezeptor wird auf aktivierten T-Lymphozyten exprimiert. Eine Bindung von IL-2 an den Rezeptor führt zu einer Proliferation der T-Lymphozyten. Diese Bindung

wird durch Basiliximab verhindert. Das Risiko für akute Abstoßungsreaktionen wird hierdurch gesenkt (59; 60).

#### 1.9.1.2. Rituximab (MabThera®)-Gabe:

Patienten die ein hohes Risiko für eine humorale Abstoßungsreaktion haben, erhalten eine Rituximab-Gabe. Hierzu gehören Patienten, die eine ABO-inkompatible oder HLA-inkompatible Lebendnierenspende erhalten. Rituximab bindet als monoklonaler Antikörper an CD20 auf den B-Lymphozyten. Die B-Lymphozyten werden dadurch in ihrer Proliferation gehemmt. Somit sinkt das Risiko für humorale Abstoßungsreaktionen (61; 62). Auch wenn die Rituximab-Gabe in der Studie den Induktionen zugeordnet wurde, ist sie im eigentlichen Sinn keine Induktionstherapie, sondern eine Therapie zur B-Zell-Hemmung.

#### 1.9.1.3. Anti-T-Lymphozyten Globuline (ATG)-Induktion (Thymoglobulin®):

ATG sind polyklonale Antikörper die sich gegen die T-Lymphozyten richten. Sie führen zu einer langanhaltenden Senkung der T-Lymphozytenzahl. ATG eignet sich als Induktionstherapie für Patienten mit einem hohen immunologischen Risiko. Aufgrund der potenten immunsuppressiven Wirkung ist auch das Risiko für Infektionen erhöht (63; 64).

### **1.9.2. Erhaltungstherapie:**

Im Klinikum Stuttgart erhalten die Patienten standardmäßig eine Kombination aus Tacrolimus (Tac), Mycophenolsäure (MPS) und Glukokortikoide (GK).

Tacrolimus ist ein Calcineurininhibitor. Calcineurin führt über IL-2 auf der Oberfläche von T-Lymphozyten zu deren Aktivierung. Dadurch werden sowohl die zelluläre als auch die humorale Immunantwort verstärkt. Zu den bedeutendsten Nebenwirkungen von Tacrolimus zählen seine Nephrotoxizität sowie die Entwicklung eines Posttransplantationsdiabetes (65; 66).

MPS Mycophenolsäure: MPS kann T- und B- Lymphozyten hemmen, indem es selektiv und reversibel an das Enzym Inosinmonophosphatdehydrogenase (IMPDH) (67; 68) bindet. Die IMPDH ist ein wichtiges Enzym zur Herstellung von Purin-Nukleotiden. Zu diesen Purin-Nukleotiden gehören Adenin und Guanin. Die Zelle benötigt sie zur Herstellung von DNS, RNS und diversen

Proteinen. Besonders proliferierende Zellen sind auf diese Bestandteile angewiesen (65; 69).

Prednisolon: Im Zytosol der Zellen binden Glukokortikoide (GK) an die Glukokortid-Rezeptoren (GR). Der in den Nukleus dislozierte Komplex aus GK und GR-Homodimer entfaltet seine Wirkung durch genomische Regulierungen sowie Beeinflussung von Proteinaktivitäten. Dadurch kommt es zu einer Unterdrückung der B- und besonders der T-Lymphozytenaktivität, was zur immunsuppressiven Wirkung führt (70–72).

Auch wenn versucht wird, die Medikamente durch gewichtsadaptierte Gabe und durch Spiegelkontrollen möglichst individuell anzupassen, ist der tatsächliche Effekt, den die Medikamente auf das Immunsystem haben nicht sicher zu evaluieren. Ursächlich sind die Pharmakodynamik und Pharmakokinetik:

Die Medikamente werden oral eingenommen, resorbiert, metabolisiert und abgebaut. Bereits bei der Resorption kann es zu großen Schwankungen kommen, wie viel des Wirkstoffes tatsächlich das Blut erreicht. An der Metabolisierung sind Enzyme beteiligt, die genetisch bedingt individuell schnell arbeiten (73; 66). Daher kann ein Patient die Medikamente sehr schnell und ein anderer nur sehr langsam abbauen, was ebenfalls zu erheblichen Unterschieden des Medikamentenspiegels im Blut führt. Zusätzlich können die Enzymaktivitäten durch exogene Faktoren beeinflusst werden (z.B. durch die Ernährung). Auch der Abbau der Immunsuppressiva ist individuell unterschiedlich, beispielsweise bei einer Leberinsuffizienz. MPS-Derivate werden z.B. an Plasmaeiweiße, insbesondere das Albumin, gebunden transportiert. Hypoalbuminämie oder Verdrängung aus der Albuminbindung können hier zu erhöhten Wirkspiegeln des Medikaments führen.

Der Anteil des Wirkstoffes, der tatsächlich im Körper des Patienten wirkt unterliegt aus o.g. Gründen Schwankungen sowohl zwischen verschiedenen Individuen als auch in einem Individuum selbst, wenn z.B. die Essgewohnheiten umstellt werden oder sich eine Niereninsuffizienz entwickelt. Bei einigen Medikamenten wie Tacrolimus wird daher der Medikamentenspiegel im Blut gemessen und entsprechend eines Zielbereiches angepasst. Bei anderen



Medikamenten wie der MPS ist das nicht möglich, da die Spiegelschwankungen im Blut zu groß sind. Hier korreliert nur eine AUC (Area under curve) 0-12 Stunden mit den klinischen Ereignissen, d.h. eine Messung der Medikamentenkonzentrationskurve über 12 Stunden, was im klinischen Alltag nicht möglich ist. GK werden direkt nach der Transplantation in hoher Dosis gegeben und im Verlauf wegen ihrer Nebenwirkungen konsequent reduziert bis zu einer Erhaltungsdosis von 5 mg pro Tag.

Da alle Immunsuppressiva ihre Wirkung v.a. auf die T-Zellen ausüben, könnten T-Zell-Marker, die zu den sog. Biomarkern zählen, einen Einblick in den aktuellen Status des Immunsystems geben.

### **1.10. Biomarker**

Biomarker sind "*Marker, die objektiv gemessen und ausgewertet werden können und als Indikator für normale oder pathogene biologische Prozesse oder für pharmakologische Reaktionen auf therapeutische Interventionen dienen*" (74). Beispiele für Biomarker sind Hormone (TSH), Blutdruckmessung, Ionen (Kalium, Natrium), Enzyme (CK, AST, ALT), Stoffwechselfparameter (Cholesterin), Tumormarker, Blutzuckermessung, Messung der Blutkonzentrationen von Medikamenten und viele mehr (75). Zu diesen Biomarkern gehören auch die kostimulatorischen Moleküle CD26 und CD28, die auf der T-Zelloberfläche messbar sind und deren Vorhandensein und Konzentration sich in Abhängigkeit des Aktivierungszustandes der T-Zelle verändert.

### **1.11. CD26 (Dipeptidylpeptidase IV)**

#### **1.11.1. Expression**

Die Dipeptidylpeptidase IV (DPPIV, CD26, ADAbp, EC 3.4.14.5.) wurde 1966 von Hopsu-Havu und Glenner entdeckt (76; 77). Beim Menschen kann CD26 auf aktivierten B- und T-Zellen sowie in den meisten anderen Geweben wie z.B. Nieren, Lunge und Darm nachgewiesen werden (78–81). Zusätzlich existiert im Serum eine freie Form von CD26, die sCD26 (soluble CD26) (82–84).

### **1.11.2. Struktur**

CD26 ist ein Typ II integrales Membranprotein. Es liegt als Homodimer vor und besitzt in dieser Form ein Molekulargewicht von insgesamt 110kDa. Jedes CD26 Molekül ist mit einer 22 Aminosäuren (As) langen hydrophoben Helix in der Zellmembran verankert. Von dieser aus gehen lediglich 6 As ins Zytoplasma und bilden das N-terminale Ende (85–87). Die verbleibenden 738 As bilden im Extrazellulärraum pro Monomer jeweils eine  $\alpha/\beta$  Hydrolase-Domäne und eine  $\beta$ -Propeller-Domäne mit 8 Faltblättern (78; 79; 88). Als Homodimer formen 2  $\beta$ -Propeller-Domänen an ihren C-terminalen Enden eine katalytische Region, die DPPIV.

### **1.11.3. Marker der T-Zell-Aktivierung**

Auf den T- und B-Lymphozyten ist die Expression von CD26 nicht statisch, sondern variiert je nach Aktivierungszustand der Zelle. Ruhende T-Zellen exprimieren nur teilweise und nur geringe Mengen CD26 auf ihrer Oberfläche. Nach Stimulation der T-Zelle über ihren TCR erhöht sich die Expression von CD26 um das 5-10 fache (78; 89). Daher gilt CD26 als ein Marker der T-Zell-Aktivierung.

### **1.11.4. Kostimulation**

Nachdem CD26 in seinem extrazellulären Anteil aktiviert wird, ist die weitere Signaltransduktion ins Zellinnere noch nicht vollständig verstanden (78)

Auch wenn die genaue Signaltransduktion noch unbekannt ist, konnten verschiedene Mechanismen gefunden werden, wie die Aktivierung von C26 zu einer Kostimulation führt: die DPPIV-Aktivität, ADA sowie die Bindung an Liganden.

#### **1.11.4.1. DPPIV-Aktivität**

Die DPPIV spaltet Dipeptide seiner Substrate, vorzugsweise Dipeptide mit Prolin oder Alanin auf der vorletzten Position ab, was die Aktivität der meisten seiner Substrate inhibiert, bei einigen aber auch moduliert oder steigert. Als Substrate der DPPIV sind die verschiedensten Moleküle identifiziert worden, unter anderem Hormone des Magen-Darm-Traktes, Neuropeptide

Wachstumshormone, Moleküle mit Einfluss auf die kardiovaskuläre Funktion, , Chemokine u.v.m.. Einige Substrate der DPPIV sind an der Chemotaxis, der Leukozytenmigration und der Immunregulation beteiligt (79; 90–94). Die Vielzahl der unterschiedlichsten Substrate der DPPIV lässt erkennen, wie vielfältig und komplex die Wirkungen von CD26 sind.

Ein bekanntes Substrat der DPPIV ist GLP-1, das durch DPPIV inaktiviert wird (76; 95). DPPIV-Inhibitoren werden in der Diabetologie flächenhaft eingesetzt.

#### 1.11.4.2. ADA

Ein CD26 Homodimer kann mit seinem extrazellulären Anteil 2 ADA-Moleküle binden (81). ADA ist ein Enzym, das in Säugetieren ubiquitär intrazellulär vorkommt. Kleine Mengen von ADA konnten aber auch auf der Oberfläche von T-Zellen und ACPs nachgewiesen werden (96). Hier liegen sie gebunden an Rezeptoren vor. Bisher konnten 3 solcher Rezeptoren gefunden werden: CD26, A1- und A2A-Adenosin-Rezeptoren (97–99). Die Konzentration von an T-Zellen gebundenem ADA ist nicht statisch sondern erhöht sich bei T-Zell Aktivierung, was auf eine regulatorische Funktion von ADA hinweist. ADA verstärkt die T-Zell-Aktivierung auf mehreren Wegen:

Als Enzym katalysiert ADA die Umwandlung von Adenosin zu Inosin, wodurch die Konzentration extrazellulären Adenosins gesenkt wird (78; 100). Adenosin inhibiert normalerweise die T-Zellaktivierung und kann zu Anergie und Toleranz führen. Aber auch ohne diese enzymatische Aktivität führt die Bindung von ADA an CD26 zu einer Kostimulation. Laut Dong et al (101) findet diese durch Modulation der intrazellulären Signaltransduktion statt. Zudem wurde eine trimolekulare Interaktion beschrieben, bei der ADA gleichzeitig über A2B-Rezeptoren mit einer APC und über CD26 mit einer T-Zelle verbunden ist und auf diesem Weg zu einer Kostimulation führt (81). Wie groß der Einfluss von ADA auf das Immunsystem ist zeigt sich bei einem Mangel, der zu SCID (102) (schwerer kombinierter Immundefekt) führen kann, einer schweren Störung des Immunsystems (103–105).

#### 1.11.4.3. Extrazelluläre Matrix (EZM)

CD26 interagiert mit der EZM indem es an z.B. Kollagene und Fibronektine bindet (106–109). Diese Bindungen könnten das Migrationsverhalten der T-Zellen beeinflussen.

#### 1.11.5. **Soluble CD26 (sCD26)**

Im Serum vorhandenes sCD26 entstammt von membranständigem CD26, was sich von der Zelloberfläche gelöst hat. Welche Mechanismen dazu führen, ist noch nicht bekannt, aber sCD26 behält dabei seine enzymatische Aktivität (110).

#### 1.11.6. **Immunologische Wirkung von CD26**

CD26 ist ein kostimulatorisches Molekül. CD4<sup>+</sup>T-Zellen, die über CD26 kostimuliert werden, weisen eine erhöhte Proliferationsrate, Immunglobulin (Ig)-Produktion und Aktivierung von CD8<sup>+</sup>T-Zellen auf. CD8<sup>+</sup>T-Zellen, die über CD26 kostimuliert werden, zeigten eine höhere Toxizität und werden den frühen Effektor CD8<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen zugeordnet (111). Besonders viele CD26 Moleküle werden auf CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>Gedächtniszellen gefunden (79). Diese Gedächtniszellen reagieren bei einem erneuten Ag-Kontakt besonders schnell und stark. Zudem konnte gezeigt werden, dass CD26 nicht oder nur in sehr geringen Mengen auf regulatorischen T-Zellen (Treg), dafür aber in sehr hoher Konzentration auf Th17 T-Zellen exprimiert wird (112–114).

Die Expression von CD26 und die Menge von sCD26 im Serum unterscheiden sich in einigen Autoimmunerkrankungen signifikant zu gesunden Probanden (89). Zudem könnten DPPIV-Inhibitoren einen neuen Ansatz in der Therapie autoimmun-bedingter Erkrankungen darstellen (115).

Wegen seines ubiquitären Vorkommens spielt CD26 nicht nur in der Immunologie eine bedeutende Rolle, seine Funktion hat auch Auswirkungen z.B. auf die Verdauung, Endokrinologie, Wundheilung, Krebserkrankungen, HIV u.v.m..

## **1.12. CD28**

### **1.12.1. Expression**

CD28 ist ein transmembranäres Glykoprotein und wird auf der Mehrzahl der T-Zellen exprimiert (116). Etwa 80% aller ruhenden T-Zellen exprimieren CD28. Auf der Oberfläche ruhender T-Zellen kann bei ca. 95% der CD4<sup>+</sup> und ca. 50% der CD8<sup>+</sup> T-Zellen CD28 nachgewiesen werden (117). CD28 führt bei der T-Zell-Aktivierung zu einem kostimulatorischen Effekt (118). Bislang sind zwei natürliche Liganden von CD28 bekannt: CD86 und CD80. CD86 und CD80 werden hauptsächlich auf APCs exprimiert.

### **CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte-associated Protein 4; CD152)**

CTLA-4 ist ebenso wie CD28 ein transmembranäres Glykoprotein, das auf der Oberfläche von T-Zellen exprimiert wird. Auf ruhenden T-Zellen kann man CTLA-4 nicht oder in nur sehr geringer Konzentration nachweisen (119; 120). Wird diese ruhende T-Zelle jedoch aktiviert, kommt es zu einer Hochregulation der CTLA-4 Expression (119; 121; 122). Die aktivierte T-Zelle exprimiert nun sowohl CD28 als auch CTLA-4 auf ihrer Oberfläche. Da CTLA-4 die gleichen Liganden hat wie CD28, nämlich CD86 und CD80, konkurrieren beide um die Bindung an diese Liganden (123). Im Vergleich zu CD28 bindet CTLA-4 CD80 und CD86 aber mit einer 10-20fach höheren Affinität (124). Ca. 48-72 Stunden nach der Aktivierung sind die höchsten CTLA-4-Konzentrationen auf der T-Zell-Oberfläche messbar (120).

Im Gegensatz zu CD28 inhibiert CTLA-4 die T-Zell-Aktivierung (125; 122). Daher besteht die Hypothese, dass das Verhältnis und die Konzentration von CD28 und CTLA-4 einen entscheidenden Einfluss darauf haben, ob eine T-Zelle aktiviert wird oder nicht (124; 126).

### **1.12.2. CD80 (B7-1) und CD86 (B7-2)**

CD80 und CD86 gehören der B7-Familie an (127). Auch wenn beide an die gleichen Liganden binden können, unterscheiden sie sich in ihrer Struktur, Expression und Bindungsaffinität.

CD80 und CD86 werden auf APCs exprimiert (128). CD86 ist auf ruhenden APCs in höherer Anzahl vorhanden als CD80 und wird nach Aktivierung schnell hochreguliert (129; 120). CD80 ist auf ruhenden APCs nur in sehr geringen Mengen vorhanden und wird nach einer Aktivierung langsam hochreguliert (129). Ist CD80 jedoch hochreguliert, kann es CD86 verdrängen, da es eine höhere Affinität zu den Liganden aufweist (130; 127).

### **1.12.3. Wirkungen**

Da die meisten T-Zellen CD28 exprimieren, ist CD28 einer der bedeutendsten Kostimulatoren. Als kostimulatorisches Molekül inhibiert CD28 nicht nur eine mögliche Anergie (131–133) sondern fördert auch das Überleben bereits aktivierter T-Zellen (134; 135). Mit CD28 sinkt die notwendige Konzentration von Anti-CD3-Antikörpern in Zellkulturen, die zu einer Proliferation führen. Auch die Sekretion hoher Konzentrationen von IL-2 wird durch CD28 Kostimulation gefördert (136; 137).

Was passiert, wenn kein CD28 exprimiert werden kann, veranschaulichen Tierexperimente mit CD28 knock-out Mäusen. Diese Mäuse konnten eine Immunantwort aufbauen, da es neben CD28 viele weitere kostimulatorische Moleküle gibt, die die T-Zellen aktivieren können. Man beobachtete jedoch, dass CD28 knock out Mäuse weniger bis nicht in der Lage waren Th1-, Th2-Zellen oder Tfh (T folliculäre Helferzellen) zu bilden (125; 138). Zudem konnten keine Keimzentren geformt werden (120). Somit ist sowohl die humorale als auch die zelluläre Immunantwort gehemmt. Zusätzlich wiesen diese Mäuse eine reduzierte Lymphokinsekretion, eine schwache Proliferationsrate und eine verkürzte Überlebenszeit der T-Zellen auf (128).

Indirekt kann die Bedeutung der CD28 induzierten Kostimulation sowie das Gleichgewicht zwischen CD28 und CTLA-4 durch Manipulationen an CTLA-4 verdeutlicht werden. Blockiert man CTLA-4 in gesunden Mäusen, erhöht sich die Rate an spontanen Autoimmunreaktionen, da das Gleichgewicht zugunsten von CD28 verschoben wurde. Ganz extreme Ausmaße zeigen sich in CTLA-4 knock out Mäusen, die im Alter von 2-3 Wochen eine schwere lymphoproliferative Erkrankung entwickeln, bei der es durch polyklonale

Aktivierung von T-Zellen zu Multiorgandestruktionen kommt (139; 140). Umgekehrt führt eine Bindung von CTLA-4 mit einem agonistischen Antikörper zur Hemmung der T-Zell Proliferation.

#### **1.12.4. CD28 und T-Zell-Aktivierung**

Studien veranschaulichen, dass auch die Expression von CD28 auf den T-Zellsubpopulationen nicht statisch ist, sondern sich im Rahmen einer T-Zell-Aktivierung transient ändert.

Mehrere Studien beschrieben die Rolle von CD28 bei der T-Zellaktivierung (141; 142).

Metzler et al (143) untersuchten die CD28 Expression von CD4<sup>+</sup>T-Zellen in vivo an einem Mausmodell. Nach Aktivierung der T-Zellen wurde der Median der CD28-Fluoreszenz mit FACS untersucht. Hierbei zeigte sich an Tag 1 nach der T-Zell-Aktivierung eine transiente Runterregulation von CD28, am 2. Tag jedoch eine erhöhte Expression von CD28 auf bis das 2-fache des Ausgangswertes. 6 Tage nach der T-Zell-Aktivierung erreichte die CD28 Expression wieder das Ausgangsniveau.

Auch Vallejo et al (144) beschrieben bei einer Aktivierung von T-Zellen durch autologe Monozyten sowie Anti-CD3 mAb (monoklonale Antikörper), dass die CD28 Expression 24 Stunden nach der Aktivierung sank und 72-96h nach der Aktivierung wieder ihr Ausgangsniveau erreichte.

Die Studie von Borthwick et al (145) stimulierten CD8<sup>+</sup>T-Zellen aus peripherem Blut von gesunden Probanden mit PHA oder anti-CD3. Bei diesem Versuch zeigte sich 3 Tage nach Beginn der Stimulation eine erhöhte Anzahl CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen. Im weiteren Verlauf nahm die CD28-Expression sukzessive ab und nach 4 Wochen zeigte die Mehrzahl der CD8<sup>+</sup>T-Zellen keine CD28-Expression mehr.

#### **1.12.5. CD28<sup>null</sup>T-Zellen**

Bei der T-Zell-Aktivierung kommt es zu der transienten Hoch- bzw. Runterregulation der CD28 Expression. T-Zellen können aber auch permanent die Expression von CD28 verlieren und zu CD28<sup>null</sup>T-Zellen werden.

Hauptgründe hierfür sind das Alter, rezidivierende Immunzellaktivierungen oder Erkrankungen (146).

CD28<sup>null</sup>T-Zellen stellen eine eigene Generation von T Zellen dar und unterscheiden sich strukturell und funktionell von ihren CD28<sup>+</sup> Gegenstücken.

Funktionell wirken CD28<sup>null</sup>T-Zellen meist inhibitorisch (147). Die gesteigerte Anzahl CD28<sup>null</sup>T-Zellen im Alter ist eine Erklärung für die im Alter nachlassende Immunantwort (148). Studien wie die von Goronzy et al (149) unterstützen diese These. Sie bestimmten die Antikörper nach einer trivalenten Grippeimpfung bei Probanden zwischen 65 und 98 Jahren. Zusätzlich haben sie den Anteil der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup> und der CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup> T-Zellen vor und 28 Tage nach der Impfung bestimmt. Es zeigte sich eine Korrelation zu CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen. Je höher die Konzentration der CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen war, desto geringer fiel die Antikörperproduktion gegen den Grippeimpfstoff aus.

Strukturell exprimieren CD28<sup>null</sup>T-Zellen vermehrt NK (natural killer) Zellrezeptoren. Zudem besitzen sie Granzym B und Perforin. Somit haben sie ein höheres zytotoxisches Potential. CD28<sup>null</sup>T-Zellen kommen vermehrt bei Erkrankungen wie z.B. der Rheumatischen Arthritis, SLE (Systemischer Lupus erythematodes), CMV und HIV vor (150–152).

CD28<sup>null</sup>T-Zellen zeigen auf beeindruckende Weise, wie diese Zellen eine verringerte Immunreaktion auf Antigene haben können und gleichzeitig ein erhöhtes Potential für Autoimmunreaktionen besitzen können.

### **1.13. Fragestellung der Studie**

Mit der Arbeit sollte geprüft werden, ob die Expression von CD26 und CD28 auf T-Zellsubpopulationen als Biomarker für eine Immunzellaktivierung in den ersten 12 Monaten ( $\pm 1$  Monat) nach Nierentransplantation genutzt werden kann. Hierzu sollte der Verlauf der CD26 und CD28 exprimierenden T-Zellsubpopulationen mittels Durchflusszytometrie untersucht werden. Zudem sollte analysiert werden, ob sich die CD26- und CD28-Expression zwischen Patienten mit und ohne immunologische Risikofaktoren unterscheiden. Auch Assoziationen zwischen den Biomarkern und dem Alter, der



immunsuppressiven Therapie sowie der Induktionstherapie sollten überprüft werden. Desweiteren sollte die Frage beantwortet werden, ob die diagnostisch oder prädiktiv gemessenen Biomarker genutzt werden können für die Diagnose von Ereignissen wie Abstoßungen, Infektionen oder Transplantat- und Funktionsverlust.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1. Patienten**

#### ***2.1.1. Rekrutierung der Patienten***

Im Oktober 2013 begann die Rekrutierung der Patienten im Klinikum Stuttgart in der Klinik für Nieren-, Hochdruck- und Autoimmunerkrankungen. Bis Ende Februar 2017 wurden 132 Patienten gefragt, ob sie an der Studie teilnehmen möchten. Insgesamt konnten 118 Patienten in die Studie eingeschlossen werden. Bei den übrigen 14 Patienten lag keine schriftliche Einwilligung vor. Die eingeschlossenen Patienten wurden ab dem Tag der Nierentransplantation 12 Monate ( $\pm$  1 Monat) lang beobachtet. Eingeschlossen wurden sowohl leichen- als auch lebendnierentransplantierte Patienten.

Eine Zustimmung der Ethikkommission (6162013BO2 und 1922013BO1) liegt vor.

#### ***2.1.2. Aufklärung der Patienten***

Die Patienten wurden mündlich über die Studie aufgeklärt und bestätigten ihre Einwilligung schriftlich. Nur Patienten die schriftlich einwilligten, nahmen an der Studie teil. Ausländische Patienten wurden nur rekrutiert, wenn sie den Inhalt der Aufklärung verstanden haben. Für türkisch stämmige Patienten waren Aufklärungen in türkischer Sprache vorhanden.

Die Aufklärung umfasste die Ziele der Studie, die Möglichkeit ohne Angabe von Gründen jederzeit aus der Studie austreten zu können, sowie die Auswirkungen auf den Patienten.

Mit der ersten Unterschrift willigte der Patient ein, dass sein Blut bzw. Gewebe wissenschaftlich verwendet werden darf sowie unbefristet aufbewahrt werden und in verschlüsselter Form auch für zukünftige Forschungsarbeiten verwendet werden darf, sowohl im In-als auch im Ausland.

Mit der zweiten Unterschrift erklärte er sich einverstanden, dass seine klinischen und personenbezogenen Daten in verschlüsselter Form gespeichert werden dürfen.

Die Unterlagen werden im Klinikum Stuttgart gesichert aufbewahrt.

### 2.1.3. **Einschlusskriterien und Ausschlusskriterien**

Tabelle 1 zeigt die Ein- und Ausschlusskriterien der Studie.

**Tabelle 1:** Ein- und Ausschlusskriterien der Studie

<u>Einschlusskriterien:</u>	<u>Ausschlusskriterien:</u>
-Männer und Frauen über 18 Jahre -Patienten mit immunologisch verursachten Nierenerkrankungen und/oder Nierentransplantatempfänger (Leichen- und Lebendspende) -Einwilligungsfähige Patienten -Vorliegen einer schriftlichen Einwilligungserklärung des Patienten	-Leukopenie <2500/ $\mu$ l, Thrombopenie <100.000/ $\mu$ l, -Hb < 6,0 g/l bei Rekrutierung, -bei Frauen: Schwangerschaft und Stillzeit -Debilität -fehlende Einwilligungserklärung (Informed Consent)

In der ausgewählten Kohorte befinden sich ein 15- und ein 17-jähriger Patient. Sie einwilligten ein an der Studie teilzunehmen. Die Einwilligungserklärung wurde von einem Elternteil unterschrieben.

### 2.1.4. **Entnahme der Blutproben**

Die Blutproben wurden während der Routineblutabnahmen gewonnen. Diese erfolgten nach der Transplantation zunächst auf der nephrologischen Station im Katharinen-Krankenhaus in Stuttgart, nach Entlassung aus dem Krankenhaus in der nephrologischen Ambulanz des Klinikums Stuttgart oder in der Gemeinschaftspraxis Nephrologisches Zentrum in der Wolframstraße 60, 70191 Stuttgart. Hier wurden den Patienten nach Entnahme der Routinediagnostik zusätzlich je 10ml Blut abgenommen, davon 5 ml Heparinvollblut und 5 ml EDTA-Vollblut. Ein zusätzlicher Einstich war nicht notwendig, auch mussten sich die Patienten nicht zusätzlich zu den Routineuntersuchungen vorstellen.

### 2.1.5. **Gesamtkollektiv**

Insgesamt konnten 118 Patienten in die Studie eingeschlossen werden. Hiervon waren 77 männlich und 41 weiblich.

## 2.2. **Dokumentation**

Stammdaten und Ereignisse wurden den Arztbriefen und ärztlichen Dokumenten sowie den Laborergebnissen entnommen und zu allen Visiten dokumentiert. Die Daten liegen im SAP-System des Klinikums Stuttgart vor.

### **2.2.1. Stammdaten**

Zu den erhobenen Stammdaten zählten: Geschlecht, Transplantationsdatum, kalte und warme Ischämiezeit (in Stunden), frühere Transplantationen, Datum der ersten Transplantation, Anzahl der Vortransplantationen, ob die alte Niere beibehalten wurde, Alter bei Studieneintritt, ob es sich um eine Lebendspende handelte, wer der Spender war (z.B. Ehefrau, Vater, Mutter, Partner/in), ABO-Kompatibilität, Anzahl der HLA-Mismatche, Vorhandensein von PRA, ob eine präemptive Transplantation vorlag, der CMV-Status von Spender und Empfänger, Plasmaphoresen nach der Transplantation, Besonderheiten des Patienten, Grunderkrankung, Spenderbiopsie, ob eine delayed graft function vorlag, ob der Patient der Hochrisikogruppe zugeordnet wurde, die Induktionstherapie sowie das Vorhandensein von dnDSA und präformierten Ak.

Definition Hochrisikopatienten: Patienten, die mindestens eines der folgenden Kriterien erfüllten wurden der Hochrisikogruppe zugeordnet: mindestens zwei Vortransplantationen, PRA mind. 15%, mehr als 3 HLA-Mismatche, schwarze Hautfarbe oder eine delayed graft function.

Definition delayed graft function: Patienten, bei denen die transplantierte Niere nur verzögert ihre Funktion aufgenommen hat, sodass mehr als eine Dialyse durchgeführt werden musste.

Definition präemptive Transplantation: Patienten, die transplantiert wurden, ohne zuvor dialysiert worden zu sein.

Definition positive PRA: ein Nachweis von >15% PRA.

### **2.2.2. Visitendaten**

Visitendaten bezeichnen die Daten, die bei jeder Visite erhoben wurden. Hierzu zählten: Datum der Visite, Tagesdosis CSA, Tagesdosis Tacrolimus, Tagesdosis Sirolimus, Tagesdosis Everolimus, Tagesdosis MPA, Medikamentenwechsel, Steroiddosis, Pulstherapie, Vorhandensein von Diabetes mellitus und einer medikamentösen Therapie, Anzahl von Dialysen, Funktionsverschlechterung, Abstoßung (mit Datum der Abstoßung, Banff-Stadium, Datum der Biopsie), Leukopenie, Anämie, Infektion (mit Datum und Erreger), Sepsis, Durchfall,

Transplantatverlust, Stationärer Aufenthalt mit Datum und Grund, CMV-Infektion, BKV-Infektion inkl. Anzahl der Kopien, Herpes-Infektion, EBV-Infektion und das Vorhandensein von dnDSA.

### **2.2.3. Ereignisse**

#### 2.2.3.1. Abstoßungen

Ob eine Abstoßungsreaktion vorlag wurde ebenfalls der klinischen Dokumentation entnommen. Eine Abstoßungsreaktion wurde wenn möglich histologisch gesichert und anhand der BANFF-Klassifikation eingeteilt.

#### 2.2.3.2. Alle Infektionen

Unter "alle Infektionen" wurden alle viralen, bakteriellen und Infektionen mit oder ohne Erregernachweis subsummiert, die nicht zu den fünf viralen Infektionen zählten, welche separat erfasst wurden. Die Infektionen wurden anhand der Dokumentation im Arztbrief identifiziert und im entsprechenden Visitenzeitraum dokumentiert.

#### 2.2.3.3. Virale Infektionen

Bestimmte virale Infektionen wurden separat dokumentiert. Hierzu zählten die laborchemisch nachgewiesenen Infektionen mit CMV, BKV, EBV, HSV und VZV.

#### 2.2.3.4. Kombinierter Endpunkt Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust

Zu dem kombinierten Endpunkt Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust wurden Patienten gezählt, die entweder eine Nierentransplantatfunktionsverschlechterung (=Funktionsverschlechterung) oder einen Nierentransplantatverlust (=Transplantatverlust) hatten.

Als Funktionsverschlechterung wurde eine Abnahme der Serum-Kreatinin-Konzentration um mindestens 0,3 mg/dl oder eine signifikante Zunahme der Proteinurie definiert, verglichen mit dem Wert der letzten Visite. Die Kreatininkonzentration wurde im Routinebetrieb mit einem validierten Gerät (Dimension VISTA®, Siemens Healthcare Diagnostics) aus einer Serum-Monovette bestimmt.

Als Transplantatverlust wurde der Funktionsverlust der Transplantatniere mit dauerhaft notwendiger Dialyse definiert.

#### 2.2.4. Visiten

Der Beobachtungszeitraum wurde in 15 Visiten unterteilt. Tabelle 2 zeigt die Zeiträume der einzelnen Visiten. Um mehr vollständige Datensätze zu erhalten, wurden die Visiten für bestimmte Berechnungen zusammengelegt. Bei den zusammengelegten Visiten wurden die Mittelwerte berechnet und für die weitere Statistik genutzt. Auch die Zusammenlegung kann Tabelle 2 entnommen werden. Der Tag der Nierentransplantation wurde als Tag 0 gezählt. Fand ein Ereignis zwischen Visite 1 und Visite 2 statt, so wurde das Ereignis der Visite 1 zugeordnet.

**Tabelle 2:** Definition der Visiten und Definition der zusammengelegten Visiten.

Visiten	Zusammengelegte Visiten
V1 = Tag1	Woche 1
V2 = Tag3±1 Tag	
V3 = Tag 5±1 Tag	
V4 = Tag7±1 Tag	
V5 = Tag10±2 Tage	Woche 2-4
V6 = Tag 20±3 Tage	
V7 = Tag 30±3 Tage	
V8 = 2. Monat±7 Tage	Monat 2-3
V9 = 3. Monat±14 Tage	
V10 = 4.Monat±14 Tage	Monat 4-6
V11 = 5. Monat±14 Tage	
V12 = 6.Monat±14 Tage	
V13 = 8.Monat±1Monat	Monat 7-13
V14 = 10.Monat±1Monat	
V15 = 12. Monat±1Monat	

## **2.3. Transplantationsarten**

### **2.3.1. Leichennierentransplantation**

In Deutschland wird die Vergabe von Leichennieren zentral von Eurotransplant verwaltet. Steht ein Spenderorgan zur Verfügung, wird anhand verschiedener Kriterien (Wartezeit, HLA-Status usw.) ein Empfänger ermittelt. Damit auch Patienten mit schwierigen Voraussetzungen eine Chance auf ein Spenderorgan haben, wurden verschiedene Programme ins Leben gerufen wie z.B. das Acceptable Mismatch Program oder das ESP (European Senior Program).

### **2.3.2. Lebendnierentransplantation**

Die Wartezeit auf eine Leichennierenspende kann sehr lange und frustrierend sein, da nicht genügend Nieren zur Verfügung stehen. Daher stellt die Lebendnierentransplantation eine bedeutende Alternative dar. Hierbei werden einem gesunden Spender (in der Regel einem Angehörigen des Empfängers) eine Niere entfernt und dem Empfänger transplantiert. Die hierbei sehr kurze kalte Ischämiezeit hat einen positiven Effekt auf das Transplantatüberleben.

### **2.3.3. ABO-inkompatible Lebendnierentransplantation**

Normalerweise würde eine ABO-inkompatible Transplantation wegen der Isoagglutinine des Empfängers (Anti-A, Anti-B) zu einer hyperakuten Abstoßungsreaktion führen. Heutzutage können diese Isoagglutinine entfernt werden und machen eine ABO-inkompatible Lebendnierentransplantation möglich. Im Klinikum Stuttgart werden die Isoagglutinine des Empfängers vor der Transplantation mittels Immunadsorptionen und Gabe von Rituximab soweit reduziert, dass der Titer  $< 1:4$  abfällt. Eine im Anschluss durchgeführte Nierentransplantation hat dann zwar noch ein leicht erhöhtes Abstoßungsrisiko, dennoch ist das Transplantationsergebnis vergleichbar mit ABO-kompatiblen Nierentransplantationen.

## **2.4. Induktionen**

### **2.4.1. Standard-Induktion (Basiliximab)**

Bei der Standard-Induktion erhalten die Patienten 250mg Prednisolon (Solu-Decortin H®) i.v. unmittelbar vor sowie 6 Stunden nach der Transplantation. Am

ersten Tag nach der Operation werden 50mg Prednisolon i.v. verabreicht. Zudem bekommen die Patienten 20 mg Basiliximab (Simulect®) i.v. unmittelbar vor der Transplantation sowie am 4. postoperativen Tag. Normalerweise werden Patienten, die eine Leihnierentransplantation erhalten mit einer Standard-Induktion behandelt.

#### **2.4.2. Rituximab (MabThera®)-Induktion:**

Patienten, die eine ABO-inkompatible Lebendnierenspende erhielten oder die präformierte Antikörper, dnDSA hatten benötigen eine B-Zell-depletierende Therapie. Diese basiert auf einem Protokoll, das bereits 4 Wochen vor der geplanten Transplantation mit der Gabe von Rituximab (375mg/m<sup>2</sup>KÖF) beginnt. Die Nierentransplantation konnte ab einem Antikörper-Titer unter 1:4 zwischen Empfänger und Spender durchgeführt werden. Diese Patienten benötigten auch postoperativ weitere Titerkontrollen. Bei ansteigendem Antikörper-Titer (Titer>1:8 in der ersten Woche postoperativ, Titer>1:16 in der zweiten Woche postoperativ) wurden weitere Behandlungen wie Plasmapheresen oder Immunabsorptionen notwendig um die Titer zu senken.

#### **2.4.3. Antithymozytenglobulin (ATG)-Induktion:**

ATG (Thymoglobulin®) erhalten Patienten mit einem erhöhten Risiko für Abstoßungsreaktionen. Basiliximab wurde dann nicht zusätzlich gegeben. Die Patienten erhielten zur Induktion 1,0-1,5mg/kgKG/Tag ATG. Die Erstgabe erfolgte perioperativ. Die Therapie wurde für 2-9 Tage unter täglicher Bestimmung der Lymphozytenzahl fortgesetzt. Die Gesamtdosis wurde individuell festgesetzt.

### **2.5. Erhaltungstherapie**

#### **2.5.1. Standard der immunsuppressiven Therapie**

Nierentransplantierte Patienten erhalten im Klinikum Stuttgart nach der Induktionstherapie eine immunsuppressive Tripletherapie bestehend aus:

- Tacrolimus (Prograf®)
- Mycophenolsäure (Myfortic® oder CellCept®)
- Prednisolon (Decortin H®)



Nach der Transplantation wird die immunsuppressive Tripletherapie langsam reduziert:

Prednisolon wird ab dem 2. Tag auf die orale Gabe umgestellt (Decortin H® ). Von Tag 2-14 erhält der Patient 0,5mg/kgKG Decortin H® oral. Ab Tag 15 beträgt die Dosis 20mg pro Tag, wird nach weiteren 2 Wochen auf 15mg pro Tag reduziert und im Anschluss alle 2 Wochen um 2,5mg reduziert, sodass nach ca. 3 Monaten die Erhaltungsdosis von 5mg pro Tag erreicht wird. Bei unkompliziertem Verlauf kann Decortin H® schneller ausgeschlichen werden, sodass die Erhaltungsdosis bereits nach 8 Wochen erreicht werden kann.

Tacrolimus erhielten die Patienten ab dem Tag der Transplantation mit einer Dosierung von 0,10mg/kgKG/Tag, verteilt auf 2 Dosen im Abstand von 12 Stunden. Die weitere Dosierung ist in Tabelle 3 aufgeführt und richtete sich nach dem Ziel-Talspiegel:

**Tabelle 3:** Ziel-Talspiegel von Tacrolimus nach der Nierentransplantation.

Zeitraum	Ziel-Talspiegel Tacrolimus (µg/L) bei Patienten ohne erhöhtem immunologischen Risiko	Ziel-Talspiegel Tacrolimus(µg/L) bei Patienten mit erhöhtem immunologischen Risiko
1. Woche postoperativ	8-10	10-12
2. Woche bis Tag 90	6-8	8-10
Ab Tag 91 bis Monat 12	4-6	6-8
Ab Monat 13	3-5	5-7

Die Dosis von 2x720mg Mycophenolsäure (Myfortic®) oder 2x1000mg Mycophenolat-Mofetil (CellCept®) wird zunächst fortgeführt. Nach dem 3. Monat wurde die Dosis individuell angepasst.

## 2.6. Abstoßung

Jeder Verdacht auf eine Abstoßungsreaktion wurde wenn möglich histologisch gesichert. In der Abteilung für zelluläre und molekulare Pathologie von Prof. Dr. H. - J.Gröne in Heidelberg oder Prof. Dr. R. Waldherr in der Pathologie der Uniklinik Heidelberg wurde das entnommene Material untersucht und entsprechend der Banff-Klassifikation eingeteilt.

## 2.7. Laborchemische Untersuchungen

Die laborchemischen Untersuchungen wurden im Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin am Klinikum Stuttgart ausgewertet. Hierzu wurden CE-zertifizierten Standardmethoden verwendet.

Die dnDSA wurden mit Luminex und ELISA im HLA-Labor der Blutbank im Klinikum Stuttgart bestimmt.

Die Konzentration von Tacrolimus wurde in Vollblutproben mittels LC-MS/MS bestimmt (153).

Die Konzentration von Mycophenolsäure im Plasma wurde über die HPLC gemessen (154; 155).

Der Nachweis einer viralen Infektion erfolgte mit den Geräten Avista Centaur® (Siemens Healthcare Diagnostics) oder Liaison® (DiaSorin). Die Viruslast bei einer BKV bzw. CMV-Infektion wurde mittels PCR bestimmt (hausinterne, validierte Methode nach DIN EN ISO 15189).

### 2.7.1. Bestimmung der T-Zellsubpopulationen und der Biomarker mittels FACS

Gemessen wurde der Anteil der CD26 und CD28 exprimierenden T-Zellsubpopulationen mittels Durchflusszytometrie unter Verwendung des FACS-Gerätes FC500®(Beckmann Coulter). Hierbei wurde folgendermaßen vorgegangen:

Aus dem EDTA-Blutröhrchen wurden 50µl abgenommen und entsprechend der Mengenangaben in Tabelle 4 in einem Polypropylen Röhrchen mit den entsprechenden Antikörpern vermischt:

**Tabelle 4:** Verwendete Antikörper in der FACS-Analyse.

Antikörper	Volumen
Beckman coulter®, CD3, PC7	2,5µl
Beckman coulter®,CD4, PC5	2,5µl
Beckman coulter®,CD8, APC-Alexa Flour 750	2,5µl
Beckman coulter®, CD45, Krome Orange	2,5µl
Beckman coulter®,CD45RO, FITC	5µl
Beckman coulter®, CD26, PE	5µl
Beckman coulter®, CD28, ECD	2,5µl

Nach kurzem Vortexen ruhte die Probe bei +15 bis +26°C für 15 Minuten im Dunkeln. Anschließend erfolgte die Erythrozytenlyse im Gerät TQ-Prep® (Coulter) mit Lyseereagenz (Versalyse + Fixative Solution im Verhältnis 40 + 1). Nach zweimaligem Waschen mit Isoton II konnte eine Resuspension mit 600µl Isoton II und Fixative Solution (Verhältnis 40 + 1) durchgeführt werden. Diese wurde im FACS Gerät analysiert.

Durch die im FACS Gerät integrierten Argon-Laser und Photomultiplier erfolgte die Differenzierung der verschiedenen Zellen anhand des forward-Scatters, des side scatters und der Fluoreszenzintensität der entsprechenden Antikörper.

Hierbei wurden die Lymphozyten wie folgt gated: zunächst CD3, dann CD4, anschließend CD 45 und dann die Biomarker.

Alle T-Zellen, auf denen CD45RO (=CD45<sup>+</sup>) nachgewiesen werden konnte, wurden in dieser Studie als Gedächtniszellen gewertet, alle CD45 negativen Zellen als naive T-Zellen.

## **2.8. Statistik**

Die statistischen Berechnungen wurden unterstützt von Dr. Simon Müller der Firma MUON-STAT. Dr. Müller benutzte für die Berechnung die Statistik-Software R: R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. Sowie das R-Paket rms: Frank E Harrell Jr (2017). rms: Regression Modeling Strategies. R package version 5.1-1. <https://CRAN.Rproject.org/package=rms>.

### **2.8.1. Graphiken**

Der Verlauf der Biomarker über 13 Monate bei den verschiedenen T-Zellsubpopulationen wurde mit dem Programm MedCalc® (Copyright © 1993-2011 MedCalc Software bvba, Belgien) erstellt und in Microsoft®Powerpoint bearbeitet. Die Signifikanz der Veränderungen der Biomarker zu den einzelnen Visiten wurde mit dem Wilcoxon test (paired samples) errechnet.

Die Gruppenvergleiche zum Einfluss des immunologischen Risikos vor der Transplantation und der Assoziation zu klinischen Ereignissen nach der Transplantation wurden ebenfalls mit MedCalc® durchgeführt. Verwendet wurde der Mann-Whitney-Test für unabhängige Proben. Die Bearbeitung der Graphiken geschah mit MATLAB®.

### **2.8.2. Cox-Regression**

In dieser Studie wurde anstelle der Überlebenszeit die Zeit von der Transplantation bis zum Ereignis (=Time2Event in Tagen) betrachtet. Bei Patienten, die kein Ereignis hatten, wurde der gesamte Zeitraum von der Transplantation bis zum Ende des Beobachtungszeitraums in Monat 13 in die Berechnung einbezogen. Wenn ein Patient ein Ereignis über einen längeren Zeitraum hatte oder das Ereignis mehr als ein Mal auftrat, wurde nur der Zeitpunkt der ersten Diagnosestellung berücksichtigt. Zudem wurden die Ereignisse erst ab dem 3. Monat betrachtet, da ab diesem Zeitpunkt von einer stabilen Phase nach Transplantation ausgegangen werden konnte.

In der Cox-Regression wurden die in Tabelle 5 aufgezählten Ereignisse betrachtet.

**Tabelle 5:** Aufzählung der Ereignisse, die in der Cox-Regression betrachtet wurden.

Abstoßungsreaktionen
Alle Infektionen
Virale Infektionen
Kombinierter Endpunkt Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust

Als Prädiktoren gingen die Biomaker und die klinischen Variablen in die Cox-Regression ein. Einen Überblick über die Prädiktoren gibt Tabelle 6.

**Tabelle 6:** Die Biomarker und die klinischen Variablen gingen als Prädiktoren in die Cox-Regression ein.

<b>Biomarker</b>	
CD4+CD26+T-Zellen	CD4+CD28+T-Zellen
CD8+CD26+T-Zellen	CD8+CD28+T-Zellen
CD4+CD26+T-Gedächtniszellen	CD4+CD28+T-Gedächtniszellen
CD8+CD26+T-Gedächtniszellen	CD8+CD28+T-Gedächtniszellen
<b>Klinische Variablen</b>	
Geschlecht	
Alter bei Studieneintritt	
Risikopatient	
Induktionstherapie	

Mit der Cox-Regression wird der Einfluss der Prädiktoren (in diesem Fall der Biomarker und der klinischen Variablen) bestimmt (die sogenannte Hazard Ratio) (156; 157).

Es erfolgte eine diagnostische und eine prädiktive Auswertung.

#### 2.8.2.1. Diagnostische Auswertung

Für die diagnostische Auswertung wurde der Biomarker-Wert zum Zeitpunkt des Ereignisses berücksichtigt. Wenn ein Patient beispielsweise in Visite Monat 4-6 eine Abstoßungsreaktion hatte, dann wurde der Biomarker-Wert der in Monat 4-6 gemessen wurde für die Auswertung verwendet.

#### 2.8.2.2. Prädiktive Auswertung

Für die prädiktive Auswertung wurde der Biomarker-Wert einen Messzeitpunkt vor dem Ereignis analysiert. Wenn ein Patient beispielsweise in Visite Monat 4-6 eine Abstoßungsreaktion hatte, dann wurde der Biomarker-Wert, der in Visite Monat 2-3 gemessen wurde, verwendet.

#### **2.8.3. Berechnung des AUC-Werts der ROC-Kurve**

Zusätzlich zu der prädiktiven Auswertung der Cox-Regression wurden die AUC-Werte der ROC-Kurven berechnet.

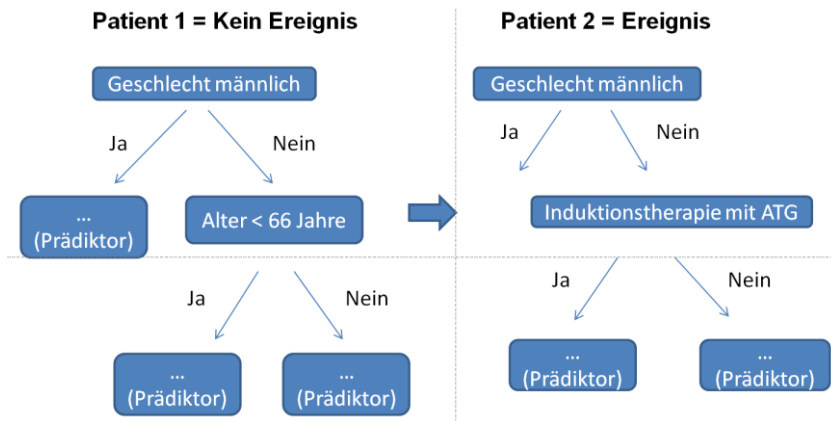
Für die Berechnung der AUC-Werte wurde XGBoost (eXtreme Gradient Boosting) verwendet (158–162). XGBoost ist ein maschinelles Lernsystem, das auf eine optimale Vorhersage ausgelegt ist. Im Gegensatz zur Cox-Regression kann XGBoost auch einen nicht-linearen Einfluss der Prädiktoren auswerten. Ziel war, dass XGBoost eine Vorhersage trifft, welcher Patient ein Ereignis haben wird und welcher Patient kein Ereignis haben wird. Hierzu wird ein Baumalgorithmus genutzt.

Um die Vorhersagefähigkeit des Maschine Learning Algorithmus auf einen unbekanntem Datensatz zu analysieren, erfolgte eine 3-fache Kreuzvalidierung. Das bedeutet, dass der vorhandene Datensatz in 3 Teile aufgeteilt wurde. Berücksichtigt wurde dabei, dass der dritte, dem Algorithmus unbekanntem Datensatz, dasselbe Verhältnis an Ereignissen besitzt wie der Trainingsdatensatz.

Aus jedem Schritt dieser 3-fachen Kreuzvalidierung wurde ein AUC-Wert ermittelt. Mit einer zusätzlichen Kreuzvalidierung wurden dann die optimalen Parameter des XGBoost-Algorithmus auf dem Trainingsdatensatz durchgeführt.

#### 2.8.3.1. Beispiel

Für jeden Patienten im Trainingsdatensatz baut XGBoost anhand der eingesetzten Prädiktoren einen Baumalgorithmus. Ein fiktives Beispiel ist in Abbildung 1 zu sehen. Hierbei kann jeder einzelne Baum nur eine schwache Vorhersagekraft haben. Aber die Information aller Baumalgorithmen zusammen genommen erhöht die Vorhersagekraft. Der optimierte Algorithmus aus dem ersten Trainingssatz, der aus den Informationen aus allen Bäumen des ersten Datensatzes erstellt wurde, wird im nächsten Schritt auf den zweiten Trainingsdatensatz angewendet. Hierbei werden Fehler erkannt und der Algorithmus immer weiter verbessert.



**Abbildung 1:** Fiktives Beispiel für einen Baumalgorithmus. In der Regel wird ein Baumalgorithmus umso genauer, je mehr "Blätter", d.h. Aufzweigungen er besitzt.

Je öfter der Trainingsdatensatz trainiert, d.h. optimiert wird, desto besser ist seine Vorhersagekraft für ein Ereignis. Ab einem bestimmten Wert sistiert die Vorhersagekraft des Modells. Hier ist die Beste AUC der ROC-Kurve erreicht, die das Modell errechnen kann.

Nachdem das Modell mit zwei Datensätzen trainiert wurde, kann nun seine Vorhersageperformance am dritten Datensatz ausgewertet werden. Das bedeutet, XGBoost kennt beim dritten Datensatz nicht die Ergebnisse, sondern trifft eine Vorhersage über die Ergebnisse des dritten Datensatzes anhand des trainierten Modells. Mit der AUC der ROC-Kurve kann diese Vorhersageperformance sichtbar gemacht werden.

Zusätzlich ist es möglich, dass das Feature Importance angezeigt wird. Das Feature Importance zeigt den Einfluss der einzelnen Prädiktoren auf die Vorhersageperformance (163–165). Es wurden zusätzlich zu den Prädiktoren, die in der Cox-Regression verwendet wurden, auch die Time2Event als Prädiktor berücksichtigt.

## 2.8.4. PR-Kurve (Precision und Recall-Kurve)

### 2.8.4.1. Vergleich mit ROC-Kurve

Ergänzend zur ROC-Kurve wurde die PR-Kurve erstellt.

Die ROC-Kurve fokussiert sowohl auf die positiven Fälle (in diesem Fall Patienten mit einem Ereignis) als auch auf die negativen Fälle (kein Ereignis). Verständlicher wird das, wenn man die Beschriftung der Achsen anschaut:

Y-Achse: Sensitivität

= (Richtig-Positiv-Rate=Richtig Positive/(Richtig Positive+Falsch Negative)

X-Achse: 1-Spezifität

=(Falsch-Positiv-Rate=Falsch Positive/(Falsch Positive+Richtig Negative) (166).

#### 2.8.4.2. PR-Kurve

Die PR-Kurve fokussiert auf die positiven Fälle (in diesem Fall Ereignisse). Die PR-Kurve ist eine Methode, die eine Aussage macht über die Anzahl richtig positiver Vorhersagen (167–170). Anhand der X-und Y-Achse wird deutlich, dass bei dieser Methode die richtig Negativen (in diesem Fall Patienten ohne ein Ereignis, die auch als solche erkannt wurden) nicht berücksichtigt werden. Diese Gruppe stellt in den meisten Fällen die Mehrheit dar (170; 171).

Y-Achse: Precision (=Richtig Positive/(Richtig Positive+Falsch Positive))

X-Achse: Recall (=Richtig Positive/(Richtig Positive+Falsch Negative)

Eine ideale PR-Kurve verläuft mit maximaler Precision von 1 und maximalem Recall von 1 über die obere rechte Ecke. Ein Modell mit guter Vorhersageperformance biegt sich in Richtung der oberen rechten Ecke und ein Modell, dessen Variable die positiven Fälle nicht vorhersagen kann, verläuft als horizontale Linie. Die Höhe dieser horizontalen Linie auf der Y-Achse hängt von der Anzahl der positiven Fälle im Datensatz ab (172).

#### **2.8.5. Signifikanzniveau**

Das statistische Signifikanzniveau  $\alpha$  wurde auf 5% festgelegt.



### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Das Patientenkollektiv

An der Studie nahmen 118 Patienten teil. Das mittlere Lebensalter bei Studieneintritt lag bei den Frauen bei 53,2 Jahren und bei den Männern bei 52,8 Jahren. Tabelle 7 zeigt die Eigenschaften des Patientenkollektivs im Detail.

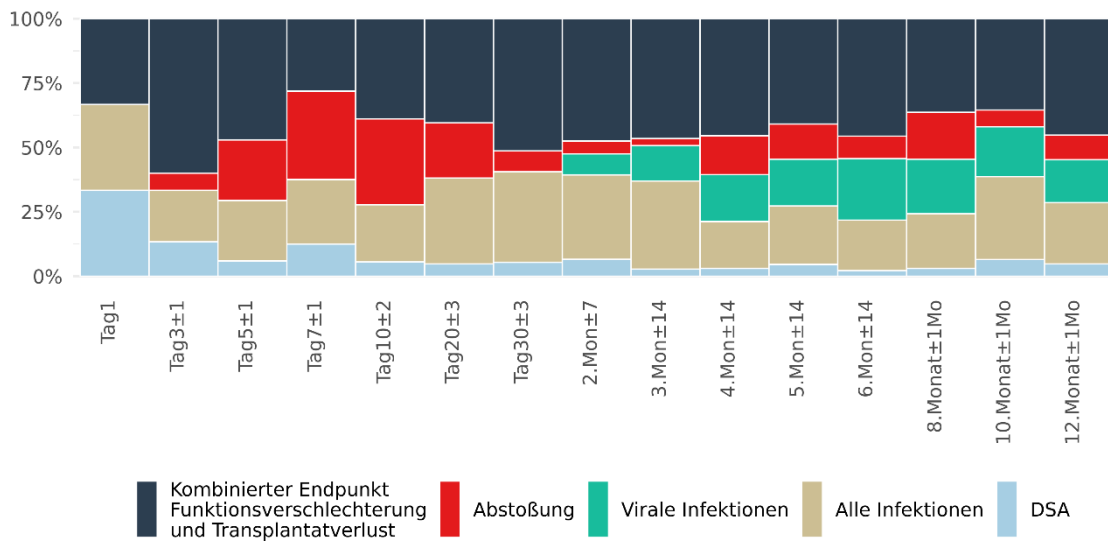
**Tabelle 7:** Eigenschaften des Patientenkollektivs der Studie.

Anzahl der Patienten	Eigenschaften
41	Frauen
77	Männer
103	ABO-kompatibel transplantiert
15	ABO-inkompatibel transplantiert
72	Leichennierenspenden
46	Lebendnierenspenden
86	Basiliximab - Induktionstherapie
14	Rituximab - Induktionstherapie
18	ATG - Induktionstherapie
35	Delayed graft function
83	Ohne DGF
28	Patienten mit präformierten Antikörpern
74	Patienten ohne präformierte Antikörper
53	Mit HLA>3
65	Ohne HLA > 3
17	Patienten mit PRA > 15%
97	Patienten mit PRA < 15% (definiert als Patienten ohne PRA)
5	Patienten mit dnDSA
82	Hochrisikopatienten
36	Keine Hochrisikopatienten
7	Transplantatverlust
11	Präemptive Transplantation
106	Keine präemptive Transplantation

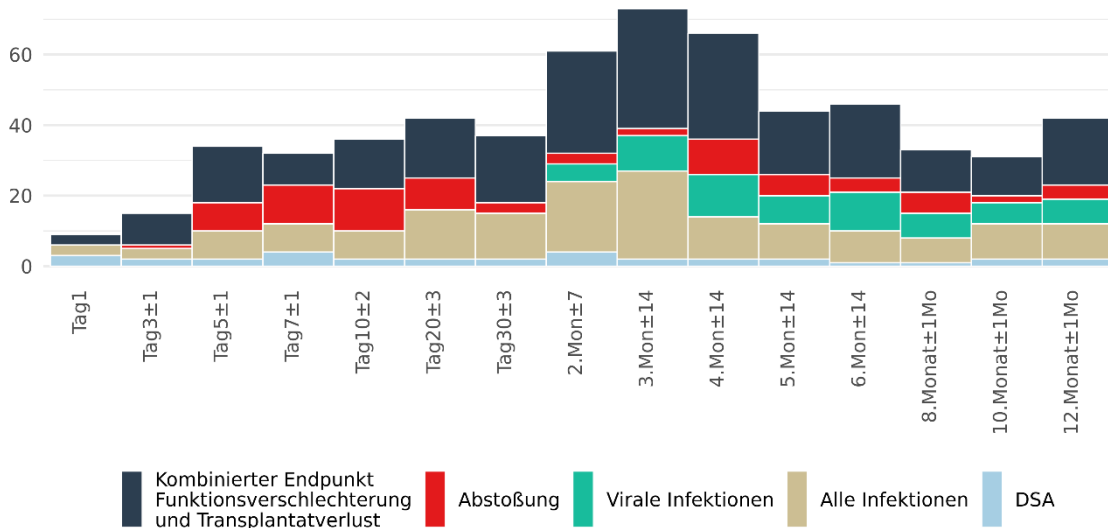
Zur statistischen Auswertung wurde der Mann-Whitney-Test für unabhängige Variablen verwendet.

#### 3.2. Klinische Ereignisse - Deskriptive Analyse

Um einen Überblick über die Ereignisse zu erhalten, wurden diese im zeitlichen Verlauf analysiert. Hierzu wurde in Abbildung 2 der relative Anteil eines jeden Ereignisses pro Zeitpunkt berechnet und graphisch dargestellt. Es zeigte sich, dass die Ereignisse virale Infektionen und der kombinierte Endpunkt Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust relativ konstant über den gesamten Beobachtungszeitraum stattfanden. Abstoßungen traten gehäuft zwischen Tag  $5\pm 1$  und Tag  $20\pm 3$  nach der Transplantation auf. Virale Infektionen hingegen traten erst ab dem zweiten Monat auf.



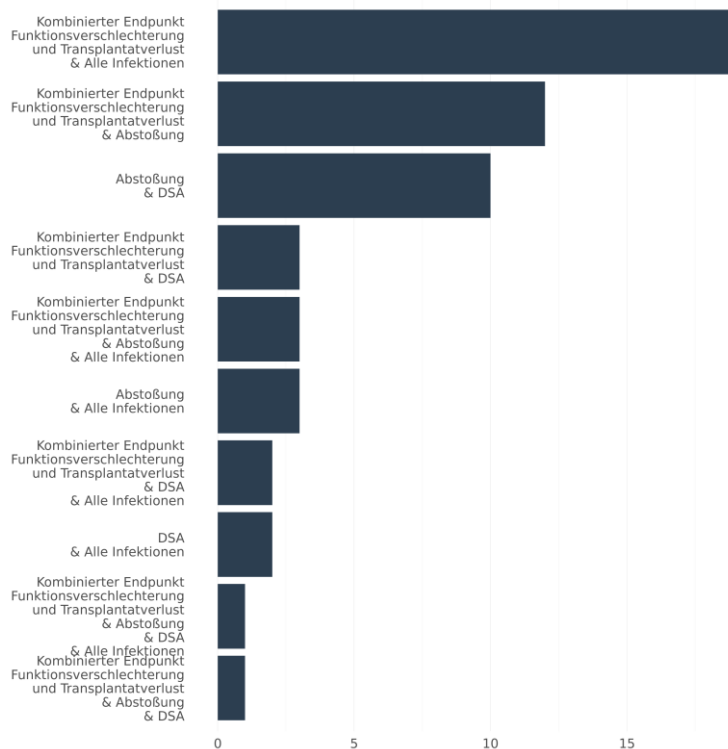
**Abbildung 2:** Relativer Anteil der Ereignisse und der dnDSA (=DSA) zum Zeitpunkt der Visiten. Verändert man die Graphik, indem man wie in Abbildung 3 aufgeführt, die Anzahl der Ereignisse pro Zeitabschnitt darstellt, fällt auf, dass es in den ersten Tagen nach der Transplantation zu nur wenigen Ereignissen gekommen ist. Ein Großteil der Ereignisse lag in den Monaten 2-4 nach der Transplantation. Am häufigsten trat der kombinierte Endpunkt Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust auf, dahinter das Ereignis alle Infektionen.



**Abbildung 3:** Anzahl der Ereignisse und das Vorhandensein von dnDSA zum Zeitpunkt der Visiten.

Ein Patient kann auch mehrere Ereignisse pro Zeitabschnitt haben. Abbildung 4 veranschaulicht, dass insbesondere der kombinierte Endpunkt

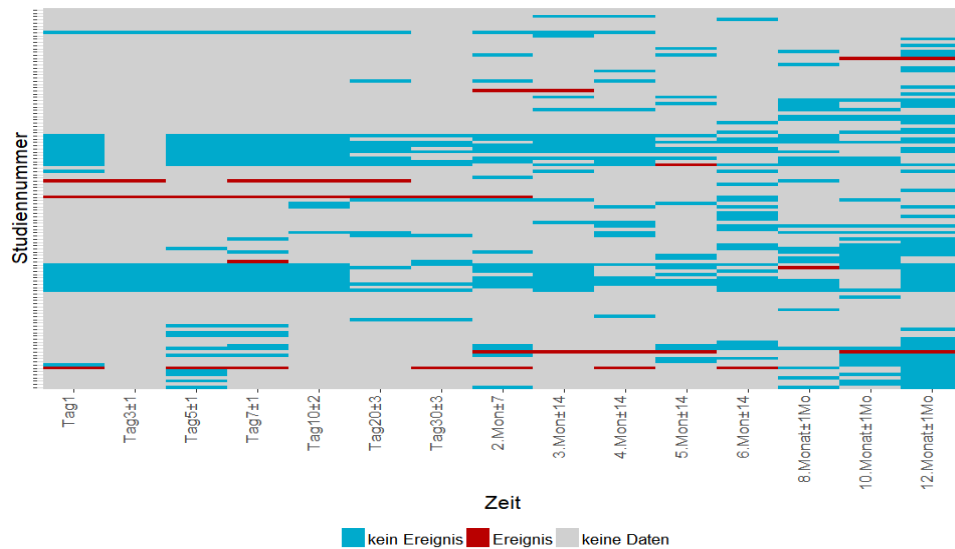
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust zusammen mit Infektionen (alle) oder Abstoßungen auftrat.



**Abbildung 4:** Anzahl mehrerer gleichzeitig auftretender Ereignisse.

In Abbildung 5 wird das Heatmap für die dnDSA gezeigt. Es wird ersichtlich, dass für viele Patienten keine Daten vorhanden waren und dass dnDSA bei einzelnen Patienten häufiger auftraten.

Wegen der geringen Anzahl der Daten wurde mit den dnDSA keine Cox-Regressionsanalyse durchgeführt.



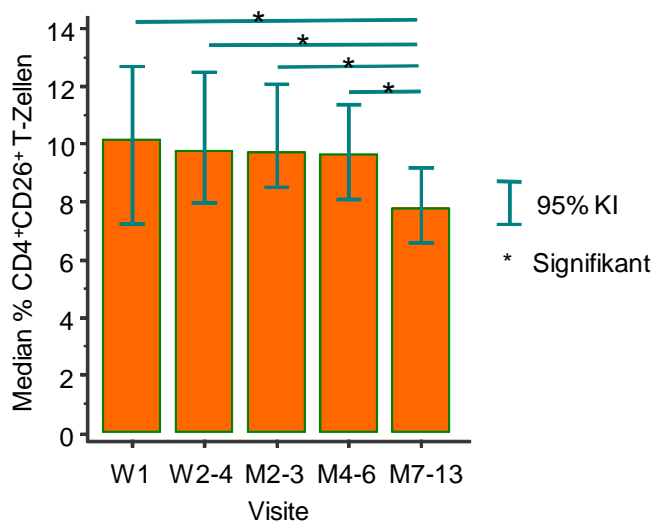
**Abbildung 5:** Heat map zu den dokumentierten dnDSA-Werten.

### 3.3. Verlauf zirkulierender CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen im Gesamtkollektiv im ersten Jahr nach der Nierentransplantation

Durch die Darstellung der Medianwerte zirkulierender CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen im ersten Jahr nach einer Nierentransplantation kann ein orientierender Eindruck gewonnen werden über signifikante Veränderungen im zeitlichen Verlauf.

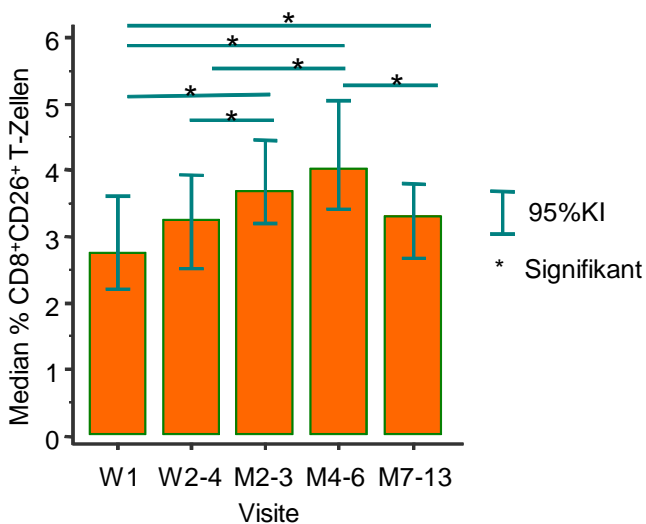
Es zeigte sich, dass der Anteil zirkulierender CD26<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen gering ist. Der Median betrug 10,1% bei den CD4<sup>+</sup>T-Zellen und 2,8% bei den CD8<sup>+</sup>T-Zellen in der ersten Woche nach der Transplantation.

Abbildung 6 zeigt den Verlauf der CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen. In den ersten 6 Monaten waren keine signifikanten Veränderungen messbar. Das ändert sich in Monat 7-13. Hier nahm der Anteil dieser T-Zellsubpopulation signifikant ab und lag bei 7,8%.



**Abbildung 6:** Verlauf der Medianwerte der anteilmäßigen CD26 Expression der CD4<sup>+</sup> T-Zellen im Gesamtkollektiv über 12 Monate ( $\pm 1$  Monat). W=Woche, M=Monat.

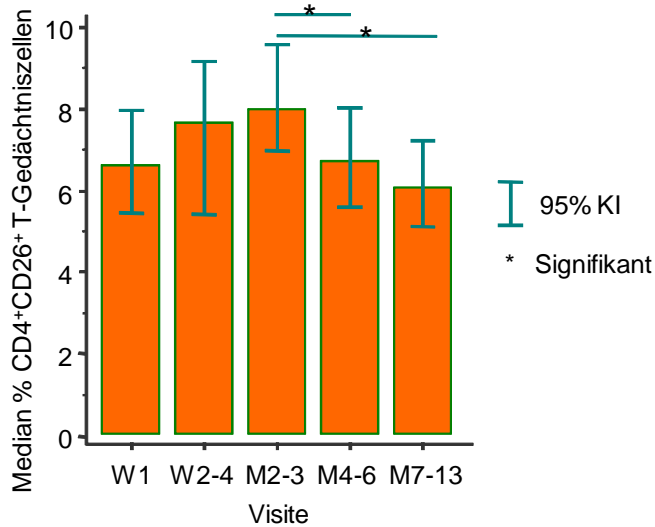
Bei den CD8<sup>+</sup>T-Zellen zeigte sich ein ganz anderer Verlauf. In Abbildung 7 ist zu erkennen, dass der Median CD26 exprimierender CD8<sup>+</sup>T-Zellen in den ersten 6 Monaten signifikant anstieg und in den Monaten 4-6 einen Wert von 4% erreichte. Im weiteren Verlauf sank der Anteil CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen zwar wieder, war in den Monaten 7-12 aber noch signifikant höher als in Woche 1.



**Abbildung 7:** Verlauf der Medianwerte der anteilmäßigen CD26 Expression der CD8<sup>+</sup> T-Zellen im Gesamtkollektiv über 12 Monate ( $\pm 1$  Monat). W=Woche, M=Monat.

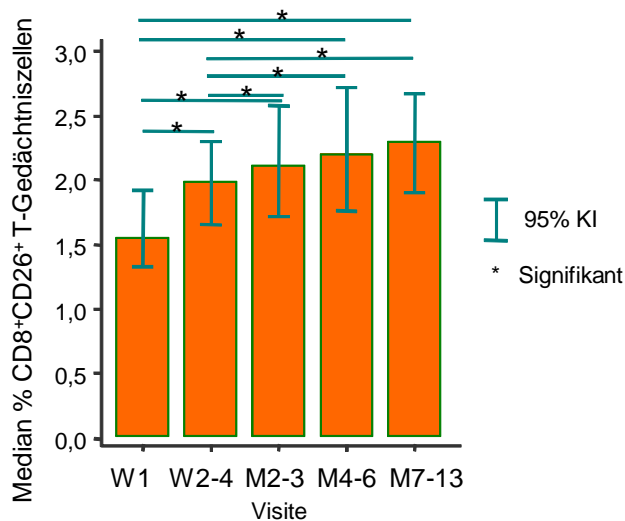
Der Verlauf der CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen wird in Abbildung 8 gezeigt. Bei dieser T-Zellsubpopulation lag der Medianwert direkt nach der Transplantation in Woche 1 bei 6,6% und stieg bis Monat 2-3 auf Werte bis 8% an. Signifikante

Unterschiede zeigten sich hier nicht. Im weiteren Verlauf kam es jedoch zu einem kontinuierlichen und signifikanten Abfall der CD26<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen, die in Monat 7-13 wieder bei 6,1% lagen und sich somit nicht signifikant vom Ausgangswert in Woche 1 unterschieden haben.



**Abbildung 8:** Verlauf der Medianwerte der anteilmäßigen CD26 Expression der CD4<sup>+</sup> T-Gedächtniszellen im Gesamtkollektiv über 12 Monate (±1Monat). W=Woche, M=Monat.

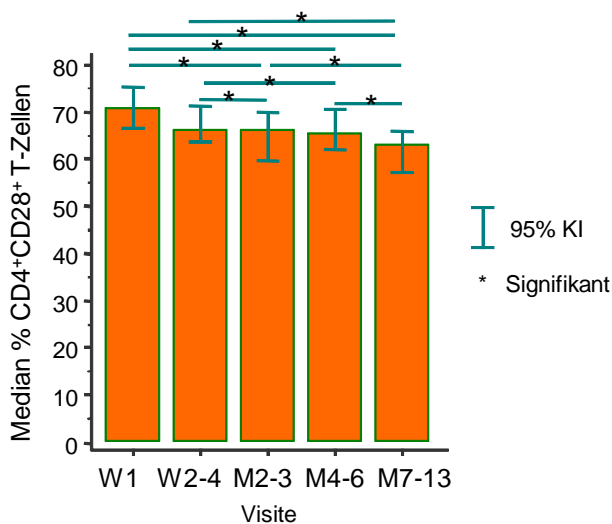
Anders sieht der Verlauf bei den CD8<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen aus. In Abbildung 9 ist zu sehen, dass der Anteil CD26 exprimierender CD8<sup>+</sup>T-Zellen im Verlauf kontinuierlich und signifikant anstieg. Während in der ersten Woche nach der Transplantation der Medianwert der CD26<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen bei 1,6% lag, ist ihr Anteil in Monat 7-13 auf 2,3% angestiegen.



**Abbildung 9:** Verlauf der Medianwerte der anteilmäßigen CD26 Expression der CD8<sup>+</sup> T-Gedächtniszellen im Gesamtkollektiv über 12 Monate ( $\pm 1$  Monat). W=Woche, M=Monat.

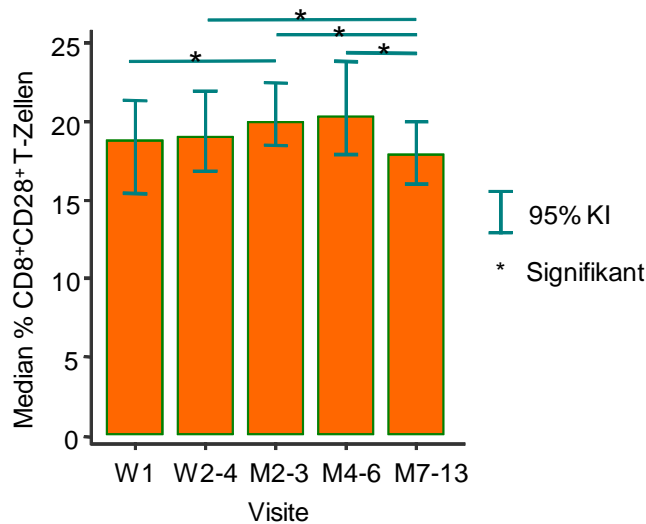
Bei den CD28<sup>+</sup>T-Zellen fiel zunächst auf, dass ihr Anteil bei den zirkulierenden T-Zellsubpopulationen deutlich höher war als der Anteil zirkulierender CD26<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen.

Bei den CD4<sup>+</sup>T-Zellen exprimierten 71% nach der Transplantation CD28. Abbildung 10 zeigt, dass ihr Anteil im Verlauf eines Jahres kontinuierlich und signifikant auf 63% sank.



**Abbildung 10:** Verlauf der Medianwerte der anteilmäßigen CD28 Expression der CD4<sup>+</sup> T-Zellen im Gesamtkollektiv über 12 Monate ( $\pm 1$  Monat). W=Woche, M=Monat.

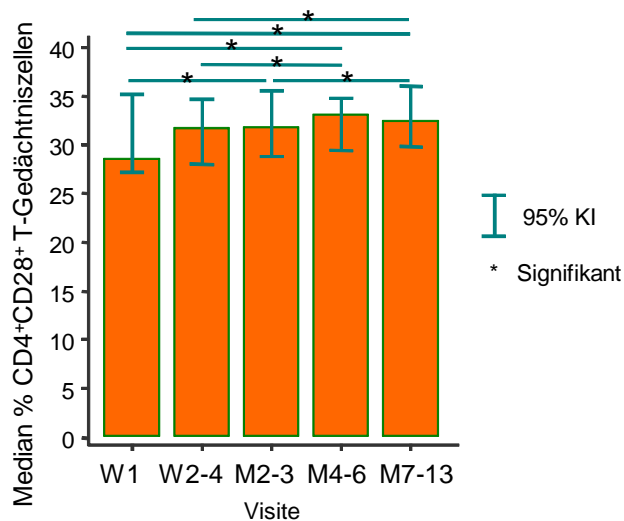
In Abbildung 11 wird ersichtlich, dass der Median der CD28 exprimierenden CD8<sup>+</sup>T-Zellen mit 18,8% nach der Transplantation deutlich geringer ist. Innerhalb der ersten 3 Monate kam es zu einem signifikanten Anstieg auf bis zu 20%, zwischen dem 6. -12. Monat sank ihr Anteil wieder signifikant ab und erreichte mit 17,9% annähernd das Niveau des Ausgangswertes in Woche 1.



**Abbildung 11:** Verlauf der Medianwerte der anteilmäßigen CD28 Expression der CD8<sup>+</sup> T-Zellen im Gesamtkollektiv über 12 Monate ( $\pm 1$  Monat). W=Woche, M=Monat.

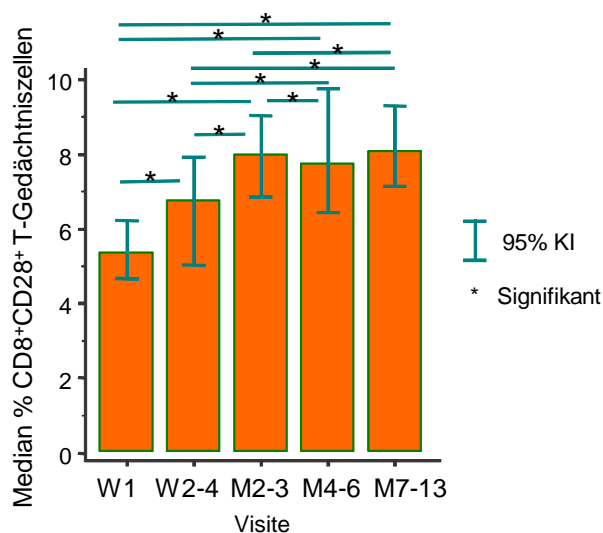
Bei den CD4<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen betrug der Median zirkulierender CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen nach der Transplantation 28,6% und stieg im Verlauf eines Jahres wenig, aber signifikant auf ca. 33,2% an. Graphisch veranschaulicht das Abbildung 12.





**Abbildung 12:** Verlauf der Medianwerte der anteilmäßigen CD28 Expression der CD4<sup>+</sup> T-Gedächtniszellen im Gesamtkollektiv über 12 Monate ( $\pm 1$  Monat). W=Woche, M=Monat

Abbildung 13 zeigt den Anstieg des Medians der zirkulierenden CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen innerhalb von 3 Monaten von 5,4% auf 8%. In Monat 4-6 und Monat 7-13 hielten sich die Medianwerte zwischen 7,8 und 8,1% und waren höher ( $p < 0,05$ ) als direkt nach der Transplantation.



**Abbildung 13:** Verlauf der Medianwerte der anteilmäßigen CD28 Expression der CD8<sup>+</sup> T-Gedächtniszellen im Gesamtkollektiv über 12 Monate ( $\pm 1$  Monat). W=Woche, M=Monat.

Zusammenfassend fanden sich beim Vergleich der Biomarker im Verlauf nur geringe Trends: Der Anteil der CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen und der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen sank im Verlauf. Bei den CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen und den CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen kam es zunächst zu einem leichten Anstieg, in der letzten Visite jedoch zu einem

Abfall der anteilmäßigen Expression. Der Anteil der CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen und den CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen stieg im Verlauf an.

### 3.4. Korrelation zwischen den CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen und dem Alter bei Studieneintritt

#### 3.4.1. Korrelation zwischen den CD26<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen und dem Alter bei Studieneintritt

Zwischen den CD26<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen und dem Alter bei Studieneintritt gab es nur zwei einzelne signifikante Korrelationen, wie Tabelle 8 zeigt.

**Tabelle 8:** Korrelationen zwischen den CD26<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen und dem Alter bei Studieneintritt.

<b>A) Korrelation zwischen den CD4+CD26+T-Zellen (Mittelwert) zu den Visiten und dem Alter bei Studieneintritt.</b>				
Visite	Anzahl	Rho	Signifikanz	95% KI für Rho
W1	98	0,193	P=0,0566	-0,00539 to 0,377
W2-4	98	0,131	P=0,1979	-0,0690 to 0,321
M2-3	106	0,127	P=0,1956	-0,0656 to 0,310
M4-6	106	0,0596	P=0,5441	-0,133 to 0,248
M7-13	112	0,0255	P=0,7894	-0,161 to 0,210
<b>B) Korrelation zwischen den CD8+CD26+T-Zellen (Mittelwert) zu den Visiten und dem Alter bei Studieneintritt.</b>				
Visite	Anzahl	Rho	Signifikanz	95% KI für Rho
W1	99	0,0898	P=0,3768	-0,110 to 0,282
W2-4	99	-0,00824	P=0,9355	-0,205 to 0,189
M2-3	106	-0,0979	P=0,3182	-0,283 to 0,0946
M4-6	106	-0,0964	P=0,3254	-0,282 to 0,0961
M7-13	112	-0,113	P=0,2336	-0,293 to 0,0736
<b>C) Korrelation zwischen den CD4+CD26+T-Gedächtniszellen (Mittelwert) zu den Visiten und dem Alter bei Studieneintritt.</b>				
Visite	Anzahl	Rho	Signifikanz	95% KI für Rho
W1	98	0,245	P=0,0149	0,0492 to 0,423
W2-4	98	0,196	P=0,0527	-0,00219 to 0,380
M2-3	106	0,173	P=0,0754	-0,0179 to 0,353
M4-6	106	0,11	P=0,2598	-0,0821 to 0,295
M7-13	112	0,0253	P=0,7913	-0,161 to 0,210
<b>D) Korrelation zwischen den CD8+CD26+T-Gedächtniszellen (Mittelwert) zu den Visiten und dem Alter bei Studieneintritt.</b>				
Visite	Anzahl	Rho	Signifikanz	95% KI für Rho
W1	99	0,202	P=0,0454	0,00434 to 0,384
W2-4	99	0,0255	P=0,8024	-0,173 to 0,222
M2-3	106	0,0582	P=0,5532	-0,134 to 0,246
M4-6	106	0,0667	P=0,4968	-0,126 to 0,254
M7-13	112	-0,0401	P=0,6743	-0,224 to 0,147

#### 3.4.2. Korrelation zwischen den CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen und dem Alter bei Studieneintritt

Bei den CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen zeigten sich mehrere signifikante Korrelationen zum Alter bei Studieneintritt. Bei den CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen und

den CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen zeigte sich eine positive Korrelation. Gegensätzlich verhalten sich die CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen. Bei ihnen zeigte sich in der Übersicht in Tabelle 9 eine negative Korrelation zum Alter bei Studieneintritt.

**Tabelle 9:** Korrelationen zwischen den CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen und dem Alter bei Studieneintritt.

<b>A) Korrelation zwischen den CD4+CD28+T-Zellen (Mittelwert) zu den Visiten und dem Alter bei Studieneintritt.</b>				
Visite	Anzahl	Rho	Signifikanz	95% KI für Rho
W1	98	0,266	P=0,0082	0,0711 to 0,441
W2-4	97	0,329	P=0,0010	0,138 to 0,496
M2-3	106	0,239	P=0,0135	0,0509 to 0,411
M4-6	106	0,126	P=0,1968	-0,0660 to 0,310
M7-13	112	0,0648	P=0,4972	-0,122 to 0,247
<b>B) Korrelation zwischen den CD8+CD28+T-Zellen (Mittelwert) zu den Visiten und dem Alter bei Studieneintritt.</b>				
Visite	Anzahl	Rho	Signifikanz	95% KI für Rho
W1	99	-0,502	P<0,0001	-0,636 to -0,338
W2-4	99	-0,458	P<0,0001	-0,601 to -0,287
M2-3	106	-0,341	P=0,0003	-0,500 to -0,161
M4-6	106	-0,372	P=0,0001	-0,526 to -0,195
M7-13	112	-0,249	P=0,0082	-0,415 to -0,0660
<b>C) Korrelation zwischen den CD4+CD28+T-Gedächtniszellen (Mittelwert) zu den Visiten und dem Alter bei Studieneintritt.</b>				
Visite	Anzahl	Rho	Signifikanz	95% KI für Rho
W1	98	0,368	P=0,0002	0,183 to 0,528
W2-4	98	0,341	P=0,0006	0,153 to 0,505
M2-3	106	0,329	P=0,0006	0,148 to 0,489
M4-6	106	0,261	P=0,0069	0,0739 to 0,430
M7-13	112	0,0573	P=0,5481	-0,130 to 0,240
<b>D) Korrelation zwischen den CD8+CD28+T-Gedächtniszellen (Mittelwert) zu den Visiten und dem Alter bei Studieneintritt.</b>				
Visite	Anzahl	Rho	Signifikanz	95% KI für Rho
W1	99	0,218	P=0,0306	0,0210 to 0,398
W2-4	99	0,0312	P=0,7590	-0,167 to 0,227
M2-3	106	0,0806	P=0,4112	-0,112 to 0,267
M4-6	106	0,108	P=0,2685	-0,0841 to 0,293
M7-13	112	0,0471	P=0,6216	-0,140 to 0,231

### 3.5. Einfluss des immunologischen Risikos vor der Transplantation auf zirkulierende CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen

#### 3.5.1. HLA Mismatch

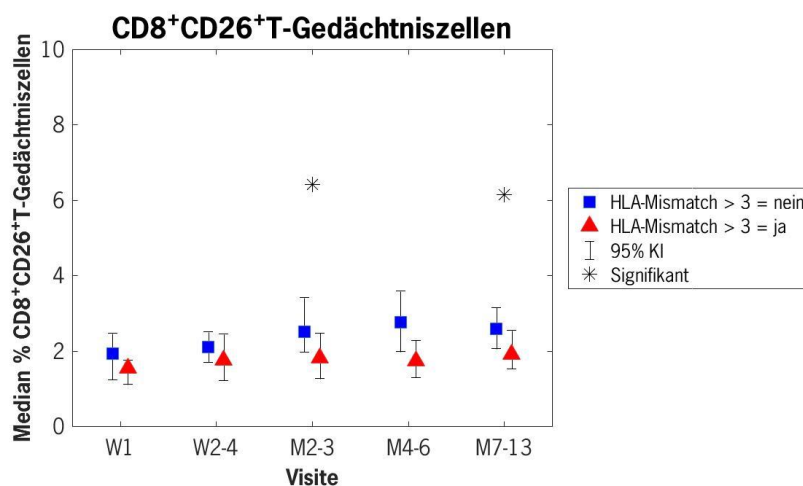
##### 3.5.1.1. CD26<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen

Zur Beurteilung des Einflusses der positiven HLA-Mismatches wurden die Patienten mit 3 oder weniger positiven HLA-Mismatches verglichen mit Patienten, die mehr als 3 HLA-Mismatches vor der Transplantation aufwiesen. Verglichen wurden die Medianwerte zirkulierender T-Zellsubpopulationen.

Bei den CD26<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen zeigten sich für die CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen und die CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen keine signifikanten Unterschiede.

Einzelne Unterschiede waren bei den Gedächtniszellen zu sehen: In Monat 2-3 war der Median bei den CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen bei Patienten mit mehr als 3 HLA-Mismatches signifikant niedriger als bei Patienten mit 3 oder weniger HLA-Mismatches.

Bei den CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen lagen die Medianwerte der Patienten mit mehr als 3 HLA-Mismatches zu allen Visiten niedriger ( $p < 0,05$  in Monat 2-3 und Monat 7-13) als bei den Patienten mit 3 oder weniger HLA-Mismatches, wie Abbildung 14 zeigt.



CD26	W1	W2-4	M2-3	M4-6	M7-13
HLA>3 =nein (CD8+CD26+T-Gedächtniszellen)	n=52	n=53	n=59	n=60	n=62
HLA>3 =ja (CD8+CD26+T-Gedächtniszellen)	n=47	n=46	n=47	n=46	n=50

**Abbildung 14:** Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen zwischen Patienten mit einem HLA-Mismatch>3 und Patienten mit einem HLA-Mismatch≤3. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl.

### 3.5.1.2. CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen

Bei den CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen wiederum zeigte sich, dass Patienten mit mehr als 3 Mismatches über alle Visiten einen höheren Medianwert hatten als Patienten mit 3 oder weniger HLA-Mismatches, auch wenn der Unterschied gering war und keine Signifikanz aufwies. Genau anders herum war die anteilmäßige Expression der CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen. Hier wiesen Patienten, die 3 oder weniger

Mismatches hatten, mehr CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen auf, mit Ausnahme in Monat 7-13. Auch hier war der Unterschied gering und erreichte keine Signifikanz.

Bei den CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen konnten keine signifikanten Unterschiede gemessen werden, wenn auch die Anzahl CD28 exprimierender CD4<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen über alle Visiten bei den Patienten mit 3 oder weniger HLA-Mismatches höher war als in der Vergleichsgruppe. Ähnlich war es bei den CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen. Einen signifikanten Unterschied gab es nicht, dennoch exprimierten Patienten mit 3 oder weniger HLA-Mismatchens mehr CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen mit Ausnahme in Woche 2-4.

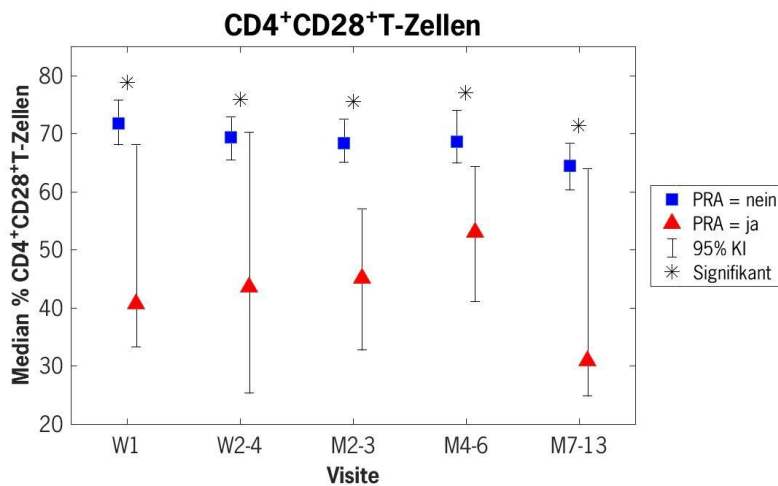
### **3.5.2. Patienten mit PRA vs. Patienten ohne PRA**

#### **3.5.2.1. CD26<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen**

Der Median zirkulierender CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen war bei Patienten mit PRA in Woche 1 ( $p < 0,05$ ) und Woche 2-4 niedriger und in Monat 2-3, Monat 4-6 und Monat 7-12 höher als bei den Patienten ohne PRA. Bei den CD8<sup>+</sup>T-Zellen war der Anteil CD26<sup>+</sup>T-Zellen bei den Patienten mit PRA in Woche 1 etwas niedriger, zu allen anderen Visitenzeitpunkten jedoch höher als in der Vergleichsgruppe, in Monat 2-3 und Monat 7-15 mit signifikantem Unterschied. Auch bei den CD4<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen war die Anzahl CD26 exprimierender T-Zellen in Woche 1 ( $p < 0,05$ ) und Woche 2-4 zunächst niedriger als bei den Patienten ohne PRA, ab dem Monat 2-3 jedoch höher. Bei den CD8<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen zeigten sich keine einheitlichen Trends oder signifikanten Unterschiede.

#### **3.5.2.2. CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen**

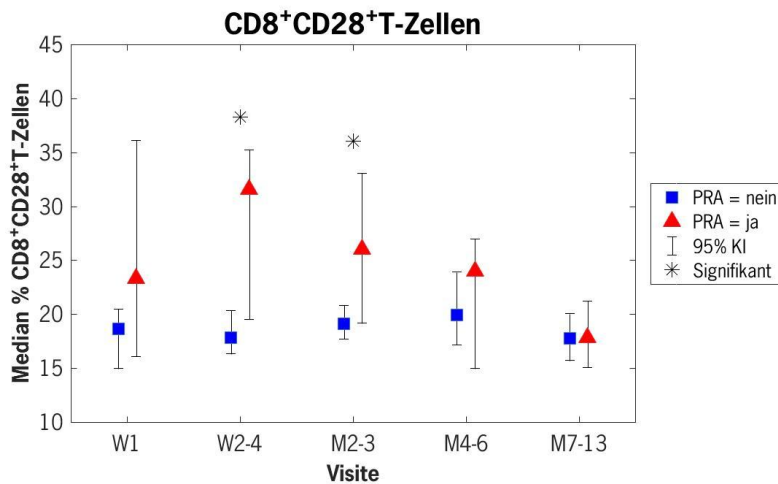
Beim Vergleich der Patienten mit PRA und Patienten ohne PRA zeigten sich signifikante Unterschiede v.a. beim Anteil der CD28 exprimierenden T-Zellsubpopulationen. Abbildung **15** zeigt, dass Patienten mit PRA über alle Visiten eine signifikant niedrigere Anzahl CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen hatten als Patienten ohne PRA.



CD28	W1	W2-4	M2-3	M4-6	M7-13
PRA =nein (CD4+CD28+T-Zellen)	n=84	n=83	n=88	n=90	n=94
PRA =ja (CD4+CD28+T-Zellen)	n=12	n=12	n=16	n=14	n=16

**Abbildung 15:** Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen zwischen Patienten mit PRA (=PRA>15%) und ohne PRA. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl.

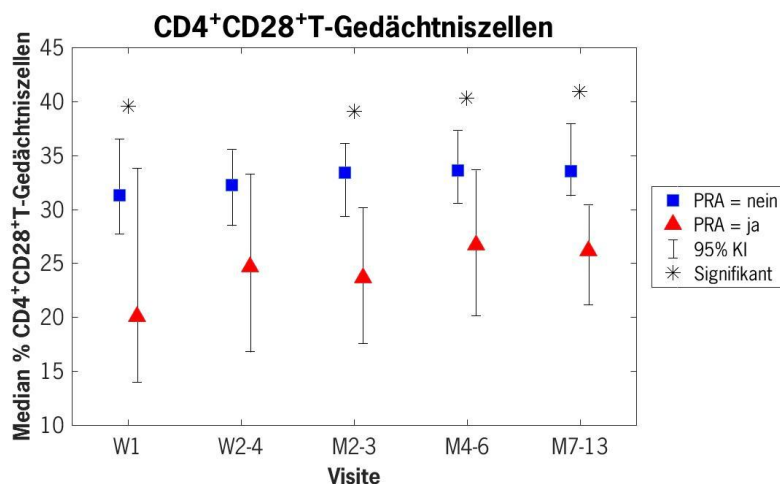
Anders stellt sich die Situation bei den CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen dar. In Abbildung 16 ist zu sehen, dass Patienten mit PRA mehr CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen aufwiesen als Patienten ohne PRA. Dieser Unterschied zeigte in Woche 2-4 und Monat 2-3 eine Signifikanz, welche in den übrigen Visiten nur knapp nicht erreicht wurde.



CD28	W1	W2-4	M2-3	M4-6	M7-13
PRA =nein (CD8+CD28+T-Zellen)	n=84	n=84	n=88	n=90	n=94
PRA =ja (CD8+CD28+T-Zellen)	n=12	n=12	n=16	n=14	n=16

**Abbildung 16:** Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen zwischen Patienten mit PRA (=PRA>15%) und ohne PRA. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl.

Signifikante Unterschiede zeigten sich auch bei den CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen. In Abbildung 17 ist zu sehen, dass der Median bei den Patienten mit PRA in allen Visiten bis auf Woche 2-4 niedriger (p<0,05) war als bei Patienten ohne PRA.



CD28	W1	W2-4	M2-3	M4-6	M7-13
PRA =nein (CD4+CD28+T-Gedächtniszellen)	n=84	n=84	n=88	n=90	n=94
PRA =ja (CD4+CD28+T-Gedächtniszellen)	n=12	n=12	n=16	n=14	n=16

**Abbildung 17:** Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen zwischen Patienten mit PRA (=PRA>15%) und ohne PRA. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl.

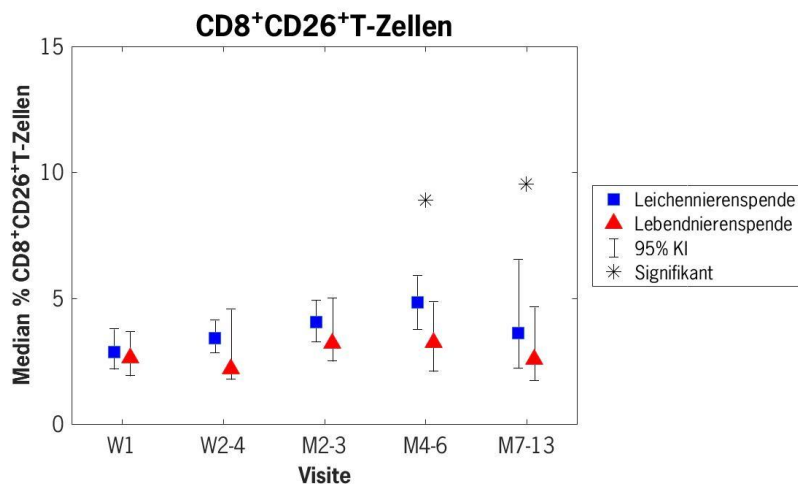
Bei den CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen zeigte sich weder ein einheitlicher Trend noch ein signifikanter Unterschied in der anteilmäßigen Expression der CD28<sup>+</sup>T-Zellen.

### 3.5.3. Lebendnierenspende vs. Leichennierenspende

#### 3.5.3.1. CD26<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen

Beim Vergleich der Medianwerte zwischen Patienten mit Lebendnierenspende und Patienten mit Leichennierenspende zeigten sich bei den CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen keine signifikanten Unterschiede.

Abbildung 18 zeigt, dass der anteilmäßige Medianwert der CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen bei Lebendnientranplantierten zu allen Visiten niedriger war im Vergleich zu Leichennientranplantierten und in Monat 4-6 und Monat 7-13 eine Signifikanz erreichte.

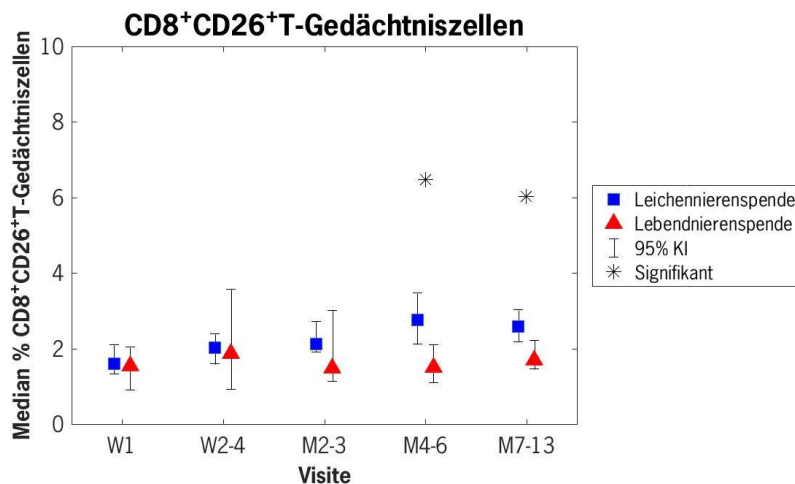


CD26	W1	W2-4	M2-3	M4-6	M7-13
Lebendspende =nein (CD8+CD26+T-Zellen)	n=63	n=66	n=65	n=64	n=66
Lebendspende =ja (CD8+CD26+T-Zellen)	n=36	n=33	n=41	n=42	n=46

**Abbildung 18:** Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen zwischen Patienten mit einer Leichennierenspende und Patienten mit einer Lebendnierenspende. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl.

Während bei den CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen kein signifikanter Unterschied messbar war, zeigten die Medianwerte der CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen Unterschiede. In Abbildung 19 ist zu sehen, dass die Werte zu allen Visitenzeitpunkten niedriger waren als bei den Leichennierentransplantierten mit einem signifikanten Unterschied ebenfalls in den Monaten 4-6 und 7-13.





CD26	W1	W2-4	M2-3	M4-6	M7-13
Lebendspende =nein (CD8+CD26+T-Gedächtniszellen)	n=63	n=66	n=65	n=64	n=66
Lebendspende =ja (CD8+CD26+T-Gedächtniszellen)	n=36	n=33	n=41	n=42	n=46

**Abbildung 19:** Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen zwischen Patienten mit einer Leichennierenspende und Patienten mit einer Lebendnierenspende. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl.

### 3.5.3.2. CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen

Bei den CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen zeigte sich bei den CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen kein nennenswerter Unterschied. Auch bei den CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen zeigte sich nur in Woche 1, dass Patienten mit Lebendnierenspende einen höheren Medianwert dieser T-Zellsubpopulation hatten als Leichennierentransplantierte (p<0,05).

Der Median der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen war bei Lebendnierenspenden niedriger als bei Leichennierenspenden mit signifikantem Unterschied in Monat 2-3 und Monat 4-6. Und bei den CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen waren die Medianwerte bei Lebendnierenspenden ab Woche 2-4 niedriger als in der Vergleichsgruppe (p<0,05 nur in Monat 4-6).

### 3.5.4. **Präemptive vs. nicht präemptive Nierentransplantation**

Beim Vergleich beider Gruppen zeigte sich nur ein einziger signifikanter Unterschied ohne erkennbaren Trend.

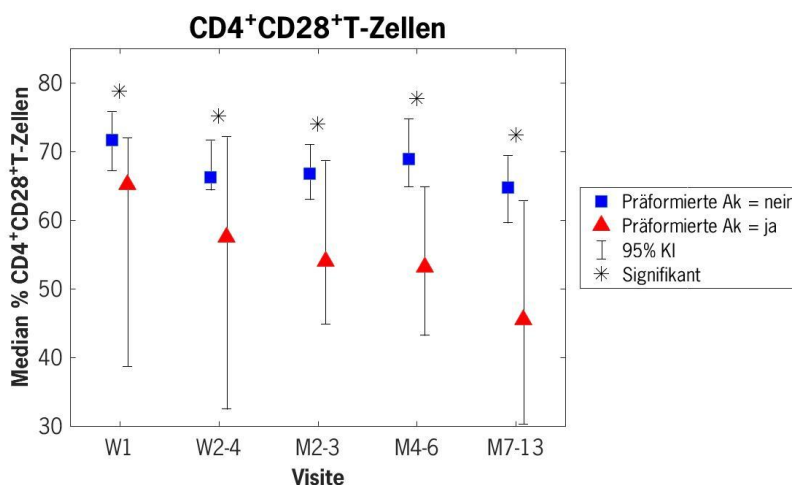
### 3.5.5. Präformierte Antikörper

#### 3.5.5.1. CD26<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen

Die Anzahl CD26 exprimierender T-Zellsubpopulationen zeigte nur einzelne signifikante Unterschiede: In Woche 1 war der Median der CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen bei Patienten mit präformierten Antikörpern niedriger als bei Patienten ohne präformierte Antikörper ( $p < 0,05$ ). Der Median der CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen lag bei Patienten mit präformierten Antikörpern in Woche 1 und Woche 2-4 niedriger ( $p < 0,05$ ) im Vergleich zu Patienten mit präformierten Antikörpern. Bei den folgenden Visiten waren jedoch die Medianwerte der Patienten mit präformierten Antikörpern höher.

#### 3.5.5.2. CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen

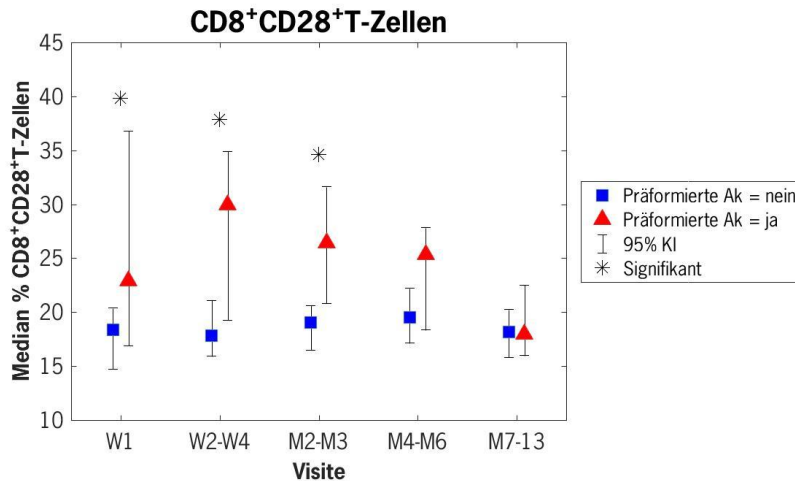
Mehrere signifikante Unterschiede zeigten sich in der Anzahl zirkulierender CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen im Vergleich zwischen Probanden mit und ohne präformierten Ak vor der Transplantation. In Abbildung 20 ist zu sehen, dass der Median der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen bei Patienten mit präformierten Ak zu allen Visiten signifikant niedriger war als bei Patienten mit präformierten Ak.



CD28	W1	W2-4	M2-3	M4-6	M7-13
Präformierte Ak =nein (CD4+CD28+T-Zellen)	n=64	n=63	n=67	n=69	n=73
Präformierte Ak =ja (CD4+CD28+T-Zellen)	n=22	n=23	n=27	n=25	n=27

**Abbildung 20:** Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen zwischen Patienten mit und ohne präformierte Antikörper. W=Woch, M=Monat, n=Anzahl.

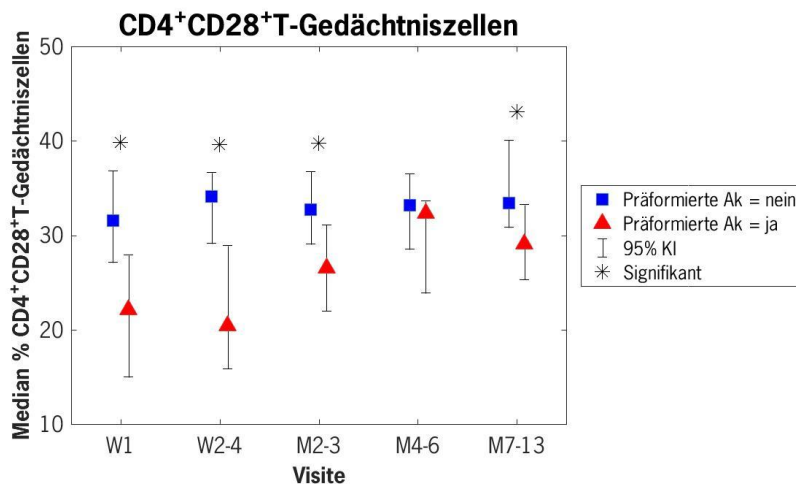
Bei den CD8<sup>+</sup>T-Zellen war es genau anders, wie Abbildung 21 zeigt. Hier lag der Anteil CD28<sup>+</sup>T-Zellen bei den Probanden mit präformierten Ak höher als in der Vergleichsgruppe mit Ausnahme in Monat 7-13 ( $p < 0,05$  in Woche 1, Woche 2-4 und Monat 2-3).



CD28	W1	W2-4	M2-3	M4-6	M7-13
Präformierte Ak =nein (CD8+CD28+T-Zellen)	n=64	n=64	n=67	n=69	n=73
Präformierte Ak =ja (CD8+CD28+T-Zellen)	n=22	n=23	n=27	n=25	n=27

**Abbildung 21:** Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen zwischen Patienten mit und ohne präformierten Antikörpern. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl.

Auch der Anteil CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen lag bei Patienten mit präformierten Antikörpern niedriger ( $p < 0,05$  in Woche 1, Woche 2-4 und Monat 2-3) als bei Patienten ohne präformierte Antikörper, wie Abbildung 22 darstellt.



CD28	W1	W2-4	M2-3	M4-6	M7-13
Präformierte Ak =nein (CD4+CD28+T-Gedächtniszellen)	n=64	n=64	n=67	n=69	n=73
Präformierte Ak =ja (CD4+CD28+T-Gedächtniszellen)	n=22	n=23	n=27	n=25	n=27

**Abbildung 22:** Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen zwischen Patienten mit und ohne präformierten Antikörpern. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl.

Bei den CD8<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen zeigte sich für die Anzahl zirkulierender CD28<sup>+</sup>T-Zellen keine einheitlichen oder signifikanten Unterschiede.

### 3.5.6. ABO-Inkompatibilität

Der Vergleich zwischen ABO-kompatibel und ABO-inkompatibel transplantierten Patienten zeigte keinen signifikanten Unterschied in dem Anteil der exprimierten Biomarker CD26 und CD28 auf den T-Zellsubpopulationen. Lediglich bei den CD4<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen zeigte sich, dass der Median CD28<sup>+</sup>T-Zellen bei der ABO-kompatiblen Gruppe höher war als in der Vergleichsgruppe. Ein signifikanter Unterschied konnte jedoch nicht gemessen werden.

### 3.5.7. Hochrisiko-Patienten

Es zeigte sich in keiner T-Zellsubpopulation ein signifikanter Unterschied bei den Hochrisiko-Patienten im Vergleich zu nicht Hochrisiko-Patienten. Der Median der Hochrisikogruppe war zwar bei den CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen, den CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen und den CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen niedriger als in der Vergleichsgruppe, jedoch ohne eine Signifikanz zu erreichen.

### **3.6. Einfluss der Induktionstherapie auf zirkulierende CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen**

Um den Einfluss der verschiedenen Induktionen auf die zirkulierenden CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen zu untersuchen wurde der Mann-Whitney-Test für unabhängige Variablen durchgeführt. Hierbei wurde die Standard-Induktion mit der Induktion mit Rituximab und die Standard-Induktion mit der Induktion mit ATG verglichen.

#### ***3.6.1. Vergleich der Rituximab-Gabe mit der Standard-Induktion***

Bei dem Vergleich der Standard-Induktion mit der Rituximab-Gabe konnten keine signifikanten Unterschiede in der anteilmäßigen Expression der Biomarker gemessen werden. CD28 wurde bei der Rituximab-Gabe von weniger CD4<sup>+</sup>T-Zellen und CD4<sup>+</sup>Gedächtniszellen exprimiert, doch diese Unterschiede erreichten nicht das Signifikanzniveau.

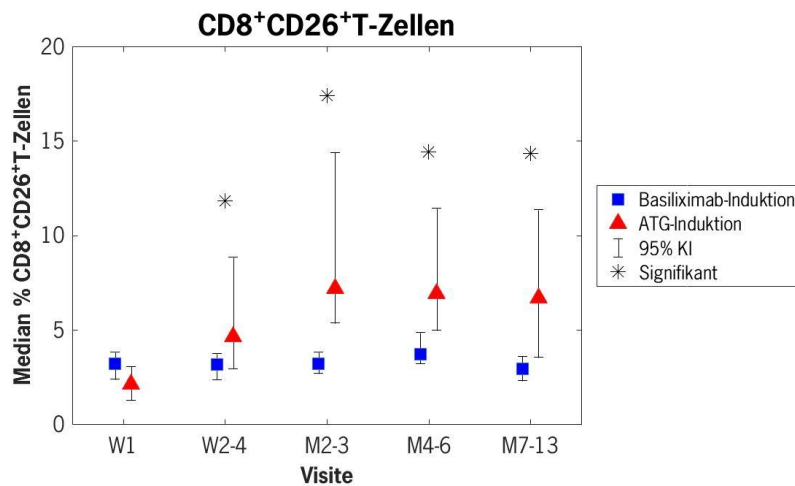
#### ***3.6.2. Vergleich der Standard-Induktion mit der ATG-Induktion***

Bei dem Vergleich der Standard-Induktion mit der Induktion mit ATG zeigten sich mehrere signifikante Unterschiede:

##### ***3.6.2.1. CD26<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen***

Bei den CD4<sup>+</sup>T-Zellen war der Anteil CD26 exprimierender Zellen in der ATG-Induktionsgruppe in Woche 1 und Woche 2-4 niedriger ( $p < 0,05$ ) als in der Standard-Induktionsgruppe, in den Visiten Monat 2-3, Monat 4-6 und Monat 7-13 jedoch höher als in der Standard-Induktionsgruppe.

In Abbildung 23 ist zu sehen, dass der Anteil der zirkulierenden CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen bei der Induktion mit ATG zu allen Visitenzeitpunkten außer in Woche 1 höher ( $p < 0,05$ ) war im Vergleich zur Standard-Induktion. In Woche 1 war er niedriger als in der Gruppe mit Standard-Induktion.



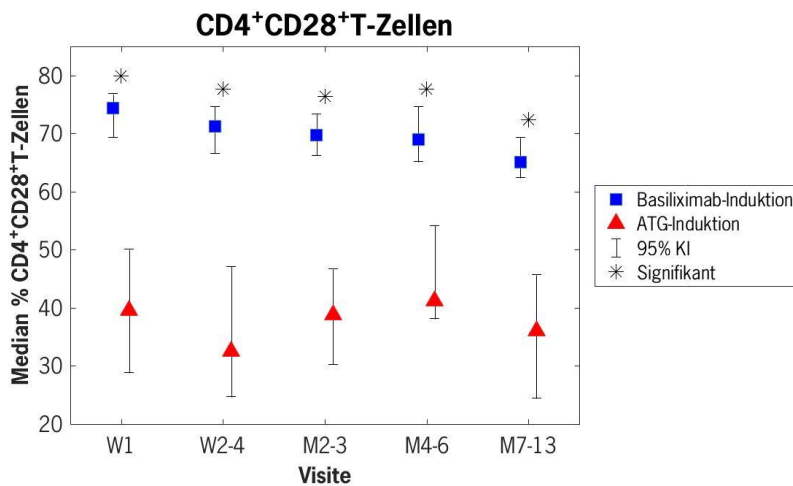
CD26	W1	W2-4	M2-3	M4-6	M7-13
Induktion Basiliximab (CD8+CD26+T-Zellen)	n=71	n=69	n=75	n=75	n=82
Induktion ATG (CD8+CD26+T-Zellen)	n=16	n=17	n=18	n=17	n=16

**Abbildung 23:** Vergleich der Medianwerte der zirkulierenden CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen zwischen der Standard-Induktion (Basiliximab) und der ATG-Induktion. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl.

Bei den Gedächtniszellen waren ebenfalls signifikante Unterschiede messbar. So exprimierten in der ATG-Induktionsgruppe in Woche 1 und Woche 2-4 signifikant weniger CD4<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen CD26. In den folgenden Visiten kam es zu einer Umkehr: der Median lag bei Patienten mit ATG-Induktion höher als bei den Patienten mit Standard-Induktion ohne jedoch Signifikanz erreicht zu haben. Deutlicher war das Ergebnis für die CD8<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen. Hier lag der Anteil CD26 exprimierender T-Zellen bei der ATG-Induktion in Monat 2-3 und Monat 7-13 signifikant höher im Vergleich zur Standard-Induktion. Dieser Unterschied war auch in Woche 2-4 und Monat 4-6 sichtbar, erreichte hier nur knapp keine Signifikanz. In Woche 1 zeigte sich ein anderes Ergebnis, hier lag der Anteil zirkulierender CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen in der Standard-Induktion höher als in der ATG-Induktionsgruppe.

### 3.6.2.2. CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen

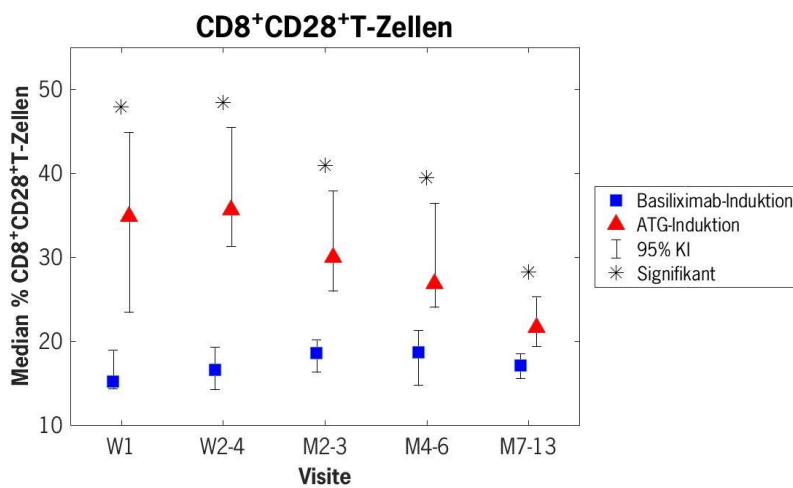
Auch bei den CD28 exprimierenden T-Zellsubpopulationen zeigten sich Unterschiede. Abbildung 24 zeigt, dass der Anteil CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen bei der Induktion mit ATG signifikant und über alle Visitenzeitpunkte niedriger war im Vergleich zur Standard-Induktion.



CD28	W1	W2-4	M2-3	M4-6	M7-13
Induktion Basiliximab (CD4+CD28+T-Zellen)	n=70	n=67	n=75	n=75	n=82
Induktion ATG (CD4+CD28+T-Zellen)	n=16	n=17	n=18	n=17	n=16

**Abbildung 24:** Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen zwischen der Standard-Induktion (Basiliximab) und der ATG-Induktion. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl.

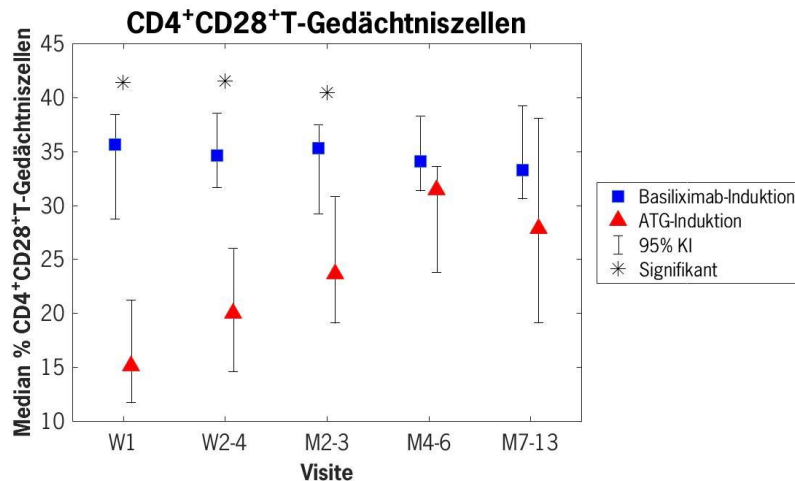
Bei den CD8<sup>+</sup>T-Zellen wiederum war der Anteil zirkulierender CD28<sup>+</sup>T-Zellen ebenfalls zu allen Visitenzeitpunkten bei der Induktion mit ATG höher ( $p < 0,05$ ) im Vergleich zur Standard-Induktion, wie in Abbildung 25 ersichtlich wird.



CD28	W1	W2-4	M2-3	M4-6	M7-13
Induktion Basiliximab (CD8+CD28+T-Zellen)	n=71	n=69	n=75	n=75	n=82
Induktion ATG (CD8+CD28+T-Zellen)	n=16	n=17	n=18	n=17	n=16

**Abbildung 25:** Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen zwischen der Standard-Induktion (Basiliximab) und der ATG-Induktion. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl.

Unterschiede ließen sich auch bei den Gedächtniszellen nachweisen. Abbildung 26 zeigt, dass der Anteil CD28 exprimierender CD4<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen bei der Induktion mit ATG in den Visiten Woche 1, Woche 2-4 und Monat 2-3 signifikant niedriger war als bei der Standard-Induktion. In Monat 4-6 und Monat 7-13 war dieser Unterschied immer noch vorhanden und nur knapp nicht signifikant.

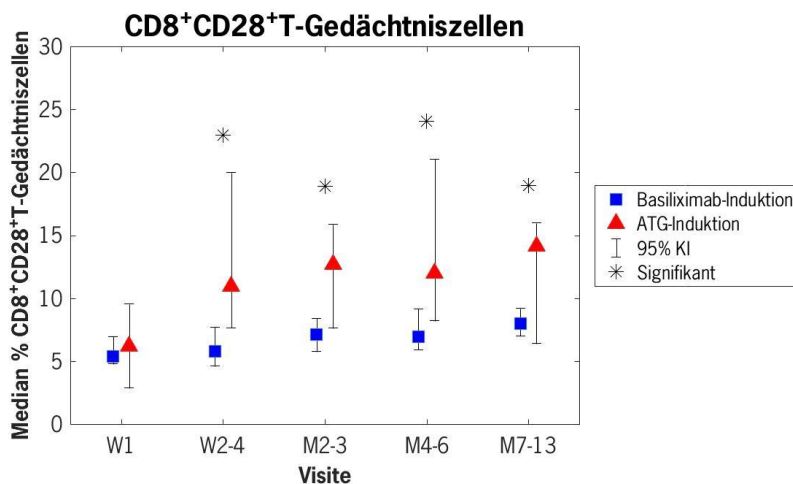


CD28	W1	W2-4	M2-3	M4-6	M7-13
Induktion Basiliximab (CD4+CD28+T-Gedächtniszellen)	n=70	n=68	n=75	n=75	n=82
Induktion ATG (CD4+CD28+T-Gedächtniszellen)	n=16	n=17	n=18	n=17	n=16

**Abbildung 26:** Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen zwischen der Standard-Induktion (Basiliximab) und der ATG-Induktion. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl.

Auch bei den CD8<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen zeigten sich Unterschiede. Abbildung 27 veranschaulicht, dass der Anteil CD28 exprimierender T-Zellen mit Ausnahme in Woche 1 in allen Visiten bei der Induktion mit ATG höher war ( $p < 0,05$ ).





CD28	W1	W2-4	M2-3	M4-6	M7-13
Induktion Basiliximab (CD8+CD28+T-Gedächtniszellen)	n=71	n=69	n=75	n=75	n=82
Induktion ATG (CD8+CD28+T-Gedächtniszellen)	n=16	n=17	n=18	n=17	n=16

**Abbildung 27:** Vergleich der Medianwerte zirkulierender CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen zwischen der Standard-Induktion (Basiliximab) und der ATG-Induktion. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl.

Zusammenfassend zeigte nur die ATG-Induktion im Vergleich mit der Standard-Induktion einen Unterschied in der anteilmäßigen Expression der Biomarker: Tabelle 10 zeigt, dass Patienten mit ATG-Induktion einen höheren Anteil CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen ( $p < 0,05$  außer in Woche 1), einen niedrigeren Anteil CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen ( $p < 0,05$ ) sowie einen höheren Anteil CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen ( $p < 0,05$ ) hatten zu allen Visitenzeitpunkten.

Bei den T-Gedächtniszellen zeigten sich in der CD26<sup>+</sup> Expression nur einzelne signifikante Unterschiede. Der Median der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen jedoch war bei der ATG-Induktion niedriger als bei der Standard-Induktion. Umgekehrt waren die Medianwerte der CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen höher als in der Gruppe der Standard-Induktion.

Somit kann die Hypothese aufgestellt werden, dass CD8<sup>+</sup>T-Zellen gegen die Induktion mit ATG resistenter sind als CD4<sup>+</sup>T-Zellen.

**Tabelle 10:** Vergleich der T-Zellsubpopulationen zwischen der Standard-Induktion (Basiliximab) und der ATG-Induktion.

Standard-Induktion (Basiliximab)	ATG-Induktion
Mehr CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Zellen vorhanden (p<0,05 zu allen Visiten)	Mehr CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Zellen vorhanden (p<0,05 zu allen Visiten)
	Mehr CD8 <sup>+</sup> CD26 <sup>+</sup> T-Zellen vorhanden (p<0,05 zu allen Visiten außer Woche 1)
Mehr CD4 <sup>+</sup> CD45 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Zellen vorhanden (p<0,05 in Woche 1, Woche 2-4, Monat 2-3)	Mehr CD8 <sup>+</sup> CD45 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T-Zellen vorhanden (p<0,05 in allen Visiten außer Woche 1)
	Mehr CD8 <sup>+</sup> CD45 <sup>+</sup> CD26 <sup>+</sup> T-Zellen vorhanden (p<0,05 Monat 2-3, Monat 7-13)

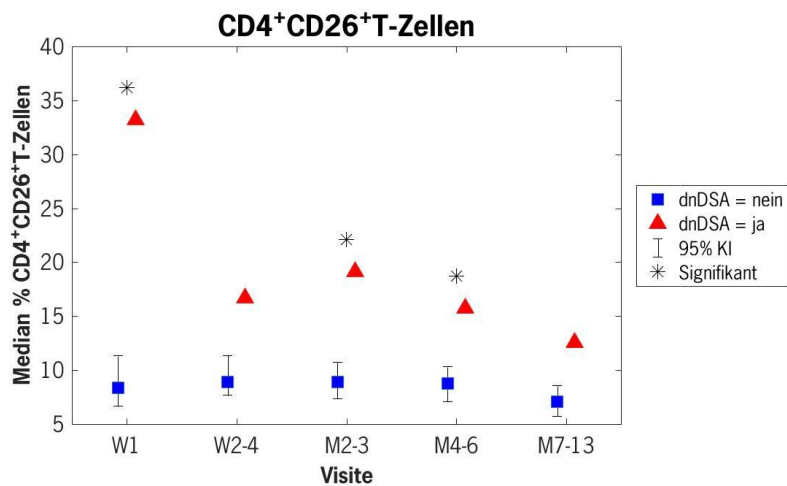
### 3.7. Assoziation klinischer Ereignisse nach der Transplantation mit zirkulierenden CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen

#### 3.7.1. DGF

In der Auswertung wurde auch der Anteil CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen zwischen Patienten verglichen, die eine DGF hatten und solchen, die keine DGF aufwiesen. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied und auch kein Trend.

#### 3.7.2. DnDSA

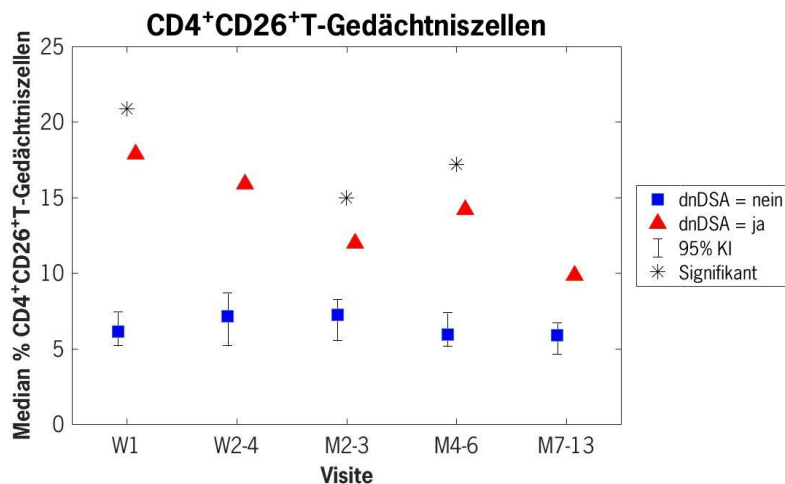
Bei dem Vergleich zwischen Patienten mit und ohne dnDSA zeigten sich signifikante Unterschiede in der anteilmäßigen Expression von CD26 von CD4<sup>+</sup>T-Zellen und CD4<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen. Abbildung 28 zeigt, dass Patienten mit dnDSA einen höheren Median CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen hatten als Patienten ohne dnDSA und das zu allen Visitenzeitpunkten (p<0,05 in Woche 1, Monat 2-3 und Monat 4-6).



CD26	W1	W2-4	M2-3	M4-6	M7-13
DnDSA=nein (CD4+CD26+T-Zellen)	n=83	n=84	n=88	n=89	n=95
DnDSA =ja (CD4+CD26+T-Zellen)	n=2	n=3	n=5	n=5	n=5

**Abbildung 28:** Vergleich zirkulierender CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen zwischen Patienten mit und ohne dnDSA. Aufgrund der geringen Anzahl der Patienten mit dnDSA konnten keine 95%Konfidenzintervalle (KI) erstellt werden. W=Woche, M=Monat, n=Anzahl.

In Abbildung 29 zeigte sich ähnliches Bild bei den CD4<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen. Diese hatten einen höheren Anteil CD26 exprimierender Zellen als in der Vergleichsgruppe zu allen Visitenzeitpunkten. Auch hier war der Unterschied in Woche 1, Monat 2-3 und Monat 4-6 signifikant.



CD26	W1	W2-4	M2-3	M4-6	M7-13
DnDSA =nein (CD4+CD26+T-Gedächtniszellen)	n=83	n=84	n=88	n=89	n=95
DnDSA =ja (CD4+CD26+T-Gedächtniszellen)	n=2	n=3	n=5	n=5	n=5

**Abbildung 29:** Vergleich zirkulierender CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellsubpopulationen zwischen Patienten mit und ohne dnDSA. Aufgrund der geringen Anzahl der Patienten mit dnDSA konnten keine 95% Konfidenzintervalle (KI) erstellt werden. W=Woch, M=Monat, n=Anzahl.

Bei den anderen T-Zellsubpopulationen zeigten sich keine weiteren signifikanten Unterschiede.

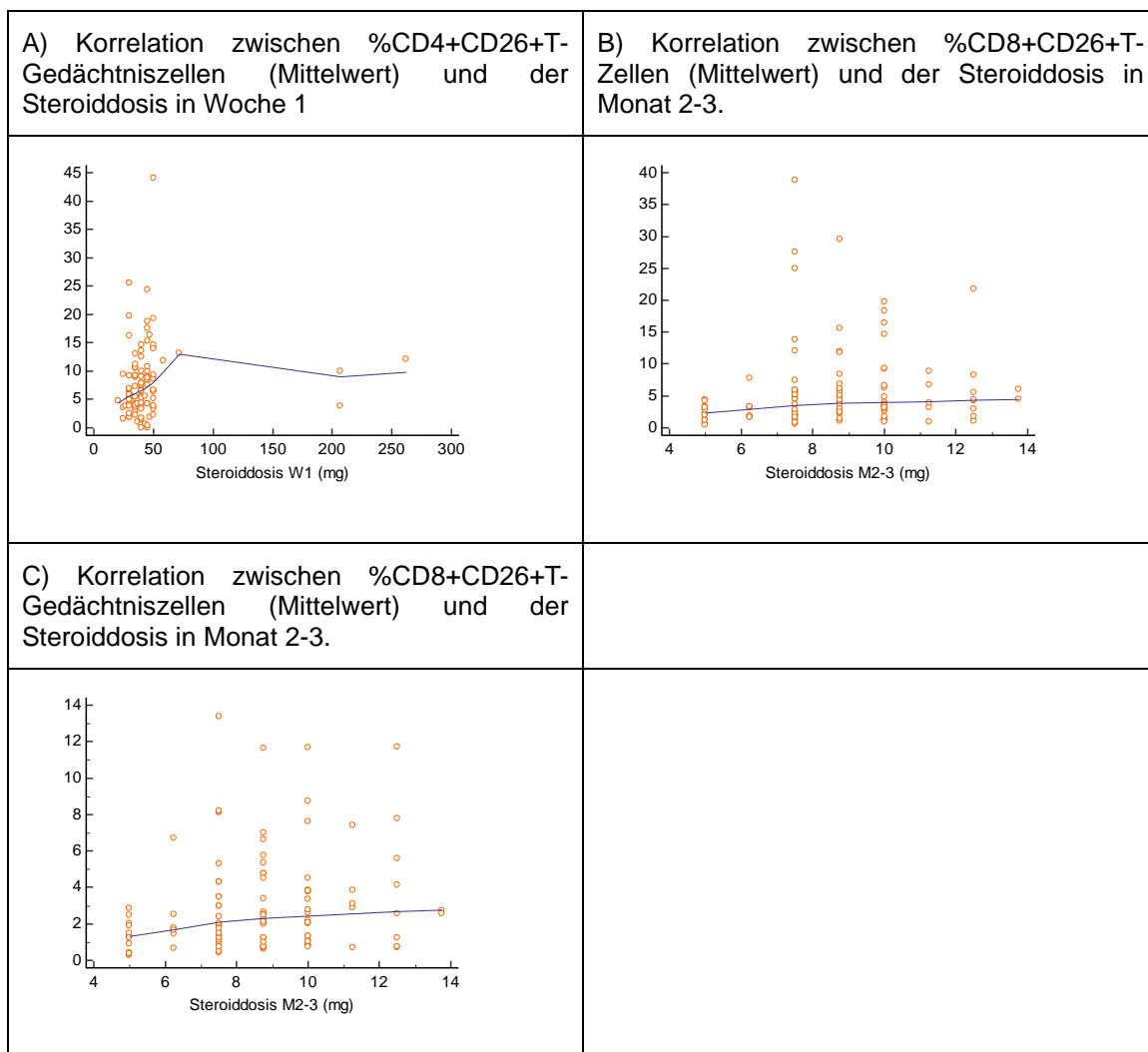
### 3.8. Korrelation der Biomarker CD26 und CD28 auf den verschiedenen T-Zellsubpopulationen zur Steroiddosis und der Konzentration von MPA und Tacrolimus

Um den Einfluss der immunsupprimierenden Medikamente zu untersuchen wurde die Korrelation zwischen der Steroiddosis bzw. der MPA- und Tacrolimuskonzentration vor der nächsten Gabe (Talspiegel) und den Biomarkern ermittelt.

Die meisten Korrelationen zeigten bei den CD26<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen und der Steroiddosis, wie Tabelle 11 und Abbildung 30 zeigen.

**Tabelle 11:** Korrelationen ( $p < 0,05$ ) zwischen CD26<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen und der Steroiddosis

Visite	Variable x	Variable y	n	rho	P	95% KI
W1	CD4+CD26+T-Gedächtniszellen	Steroid-Dosis	98	0,201	P=0,0469	0,00296 to 0,384
M2-3	CD8+CD26+T-Gedächtniszellen	Steroid-Dosis	106	0,248	P=0,0104	0,0601 to 0,419
M2-3	CD8+CD26+ T-Zellen	Steroid-Dosis	106	0,240	P=0,0132	0,0517 to 0,412

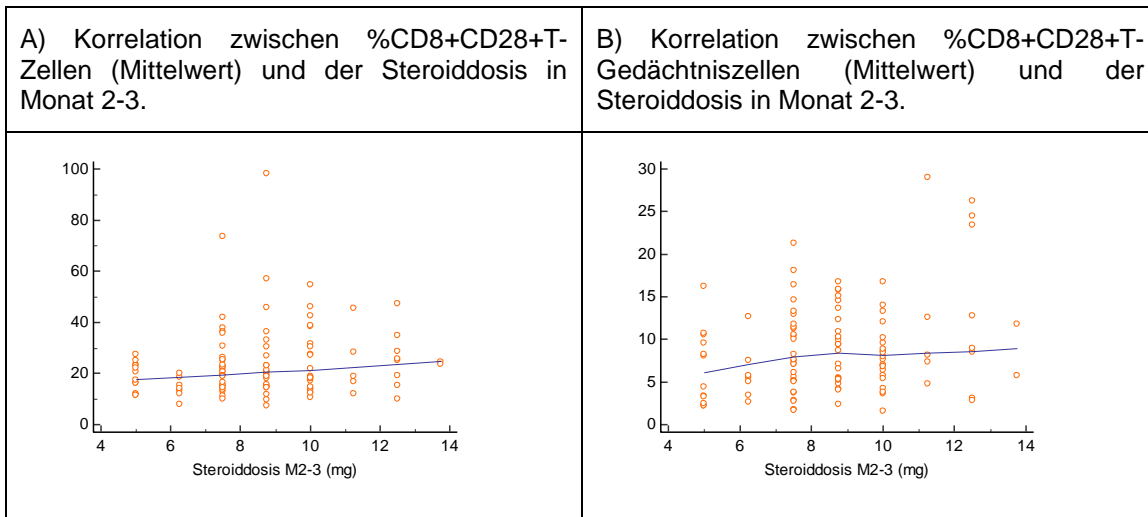


**Abbildung 30:** Korrelationen ( $p < 0,05$ ) zwischen CD26<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen und der Steroiddosis.

Auch bei den CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen gab es einzelne positive Korrelationen zu der Steroiddosis bei der Visite in Monat 2-3. Tabelle 12 und Abbildung 31 zeigen die Ergebnisse im Detail.

**Tabelle 12:** Korrelationen ( $p < 0,05$ ) zwischen CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen und der Steroiddosis.

Visite	Variable x	Variable y	n	rho	p	95% KI
M2-3	CD8+CD28+ T-Gedächtniszellen	Steroid-Dosis	106	0,197	P=0,0427	0,00675 to 0,374
M2-3	CD8+CD28+T-Zellen	Steroid-Dosis	106	0,195	P=0,0457	0,00389 to 0,371

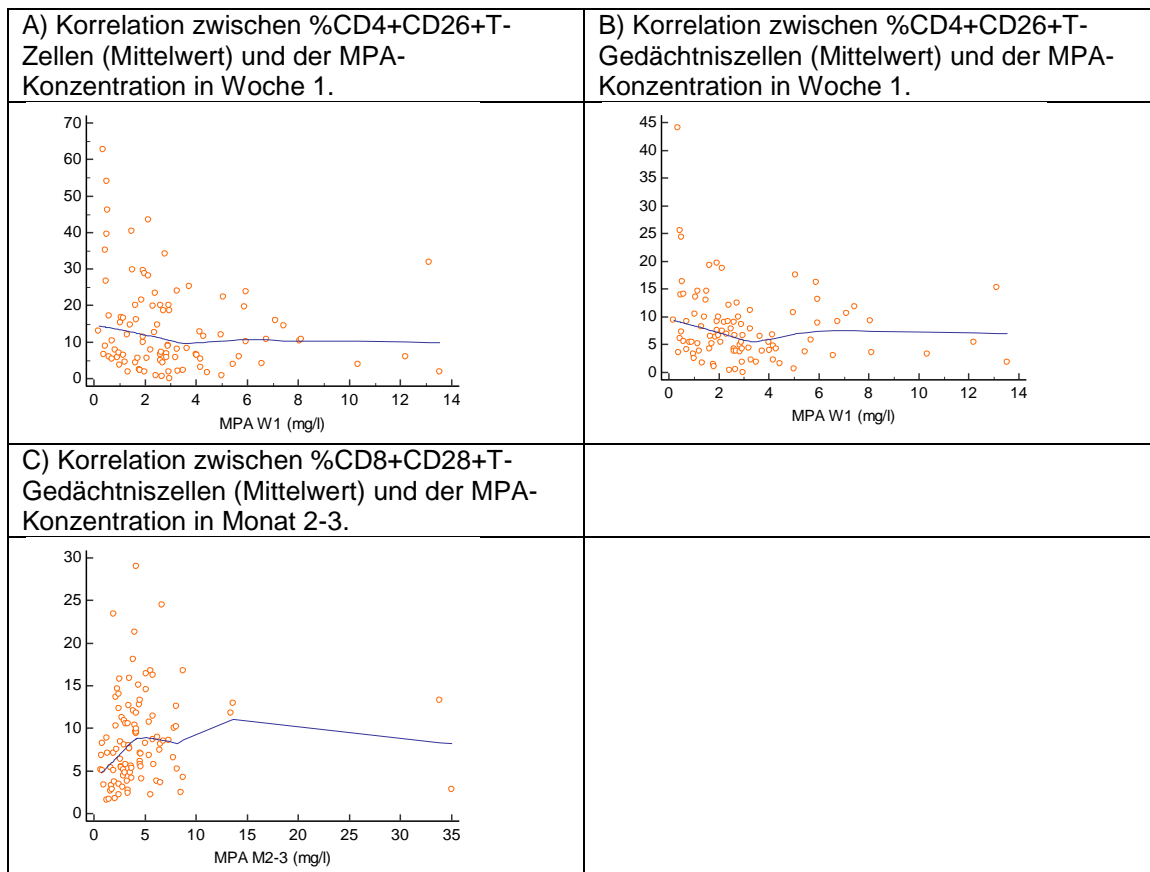


**Abbildung 31:** Positive Korrelationen ( $p < 0,05$ ) zwischen CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen und der Steroiddosis.

Die Korrelation zwischen CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen und CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen zeigt eine schwache negative Korrelation zur gemessenen MPA-Konzentration im Serum. Dagegen zeigt sich eine schwache positive Korrelation zwischen CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen und der MPA-Konzentration in Monat 2-3. Insgesamt ist die Korrelation schwach, wie Tabelle 13 und Abbildung 32 zeigen.

**Tabelle 13:** Korrelationen ( $p < 0,05$ ) zwischen CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen und der gemessenen MPA-Konzentration (Talspiegel) im Serum (mg/l).

Visite	Variable x	Variable y	n	rho	p	95% KI
W1	CD4+CD26+T-Zellen	MPA-Konzentration	96	-0,217	P=0,0334	-0,400 to -0,0176
W1	CD4+CD26+T-Gedächtniszellen	MPA-Konzentration	96	-0,216	P=0,0349	-0,399 to -0,0158
M2-3	CD8+CD28+T-Gedächtniszellen	MPA-Konzentration	103	0,269	P=0,0061	0,0793 to 0,439



**Abbildung 32:** Korrelationen ( $p < 0,05$ ) zwischen  $CD26^+$  und  $CD28^+$ T-Zellsubpopulationen (Mittelwert) und der gemessenen MPA-Konzentration (Talspiegel) im Serum (mg/l).

Tabelle 14 zeigt die einzige Korrelation ( $p < 0,05$ ) zwischen dem Talspiegel von Tacrolimus und den  $CD4^+CD28^+$ T-Gedächtniszellen in Monat 7-13.

**Tabelle 14:** Korrelationen ( $p < 0,05$ ) zwischen  $CD4^+CD28^+$ T-Gedächtniszellen und dem gemessenen Tacrolimus (Talspiegel) im Serum ( $\mu\text{g/l}$ )

Visite	Variable x	Variable y	n	rho	p	95% KI
M7-13	CD4+CD28+T-Gedächtniszellen	Tacrolimus-Konzentration	106	-0,242	P=0,0124	-0,414 to -0,0537

Zusammenfassend zeigten sich nur schwache Korrelationen ( $p < 0,05$ ) zwischen den T-Zellsubpopulationen und den Medikamentenkonzentrationen zu einzelnen Zeitpunkten, aber nicht über einen längeren Zeitraum.

### 3.9. Deskriptiver Vergleich der Verläufe der Biomarker zwischen Patienten mit und ohne einem klinischen Ereignis

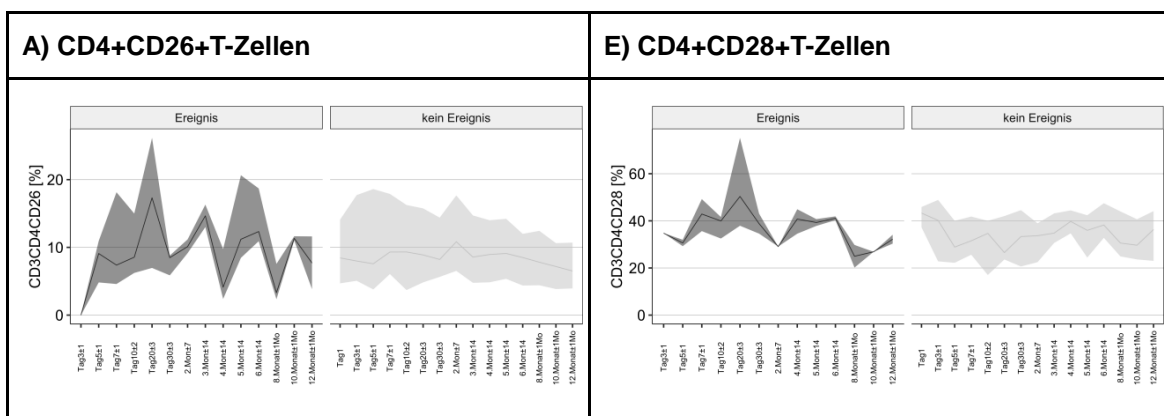
Nachdem der Verlauf der Biomarker im Gesamtkollektiv bereits dargestellt wurde, wird im nächsten Schritt deskriptiv der Verlauf der Biomarker im Vergleich zwischen Patienten mit einem Ereignis und Patienten ohne einem Ereignis dargestellt.

### 3.9.1. Abstoßungsreaktion

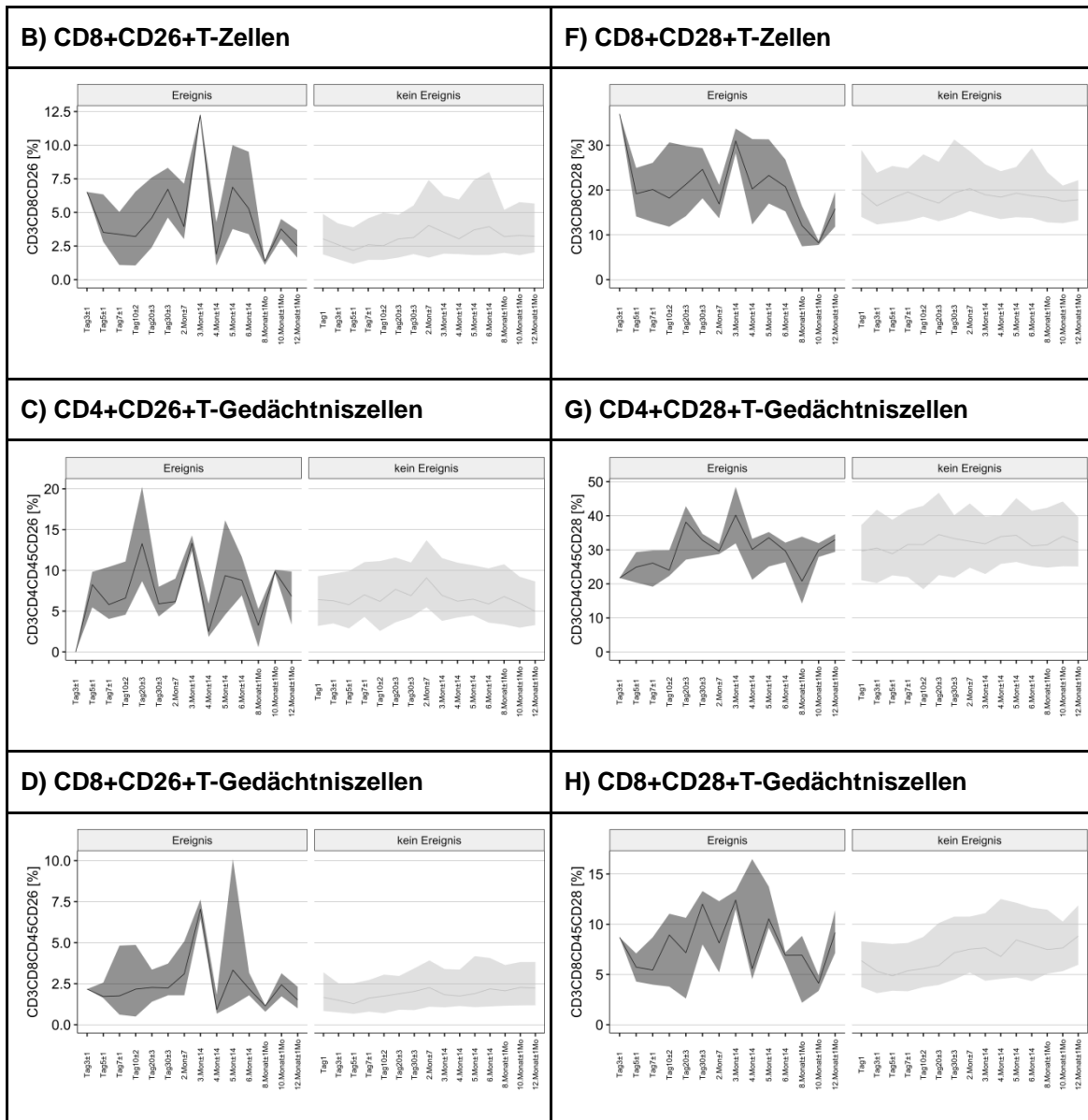
In Abbildung 33 A-D werden die Verläufe der CD26 exprimierenden T-Zellsubpopulationen zwischen Patienten mit einer Abstoßungsreaktion und Patienten ohne einer Abstoßungsreaktion verglichen. Direkt daneben ist in Abbildung 33 E-H der Verlauf der CD28 exprimierenden T-Zellsubpopulation gegenübergestellt.

Patienten ohne Abstoßung zeigten einen relativ konstanten anteilmäßigen Medianwert der CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen. Dagegen war dieser bei Patienten mit Abstoßung teilweise höher und teilweise niedriger als bei Patienten ohne Abstoßung. Ähnliche Ergebnisse waren bei der anteilmäßigen Expression von CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup> und CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen zu sehen. Die Medianwerte der CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen waren bei Patienten mit einer Abstoßung meist höher als bei Patienten ohne Abstoßung, aber auch hier zeigten sich schwankendere Werte des Biomarkers bei Patienten mit einer Abstoßungsreaktion.

Bei den CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen konnte kein Trend erkannt werden beim Vergleich der Patienten mit und ohne eine Abstoßungsreaktion. Erneut zeigten sich schwankendere Median-Werte der T-Zellsubpopulationen bei den Patienten mit einer Abstoßungsreaktion als bei Patienten ohne eine Abstoßungsreaktion. Die Streubreite war in beiden Gruppen groß.





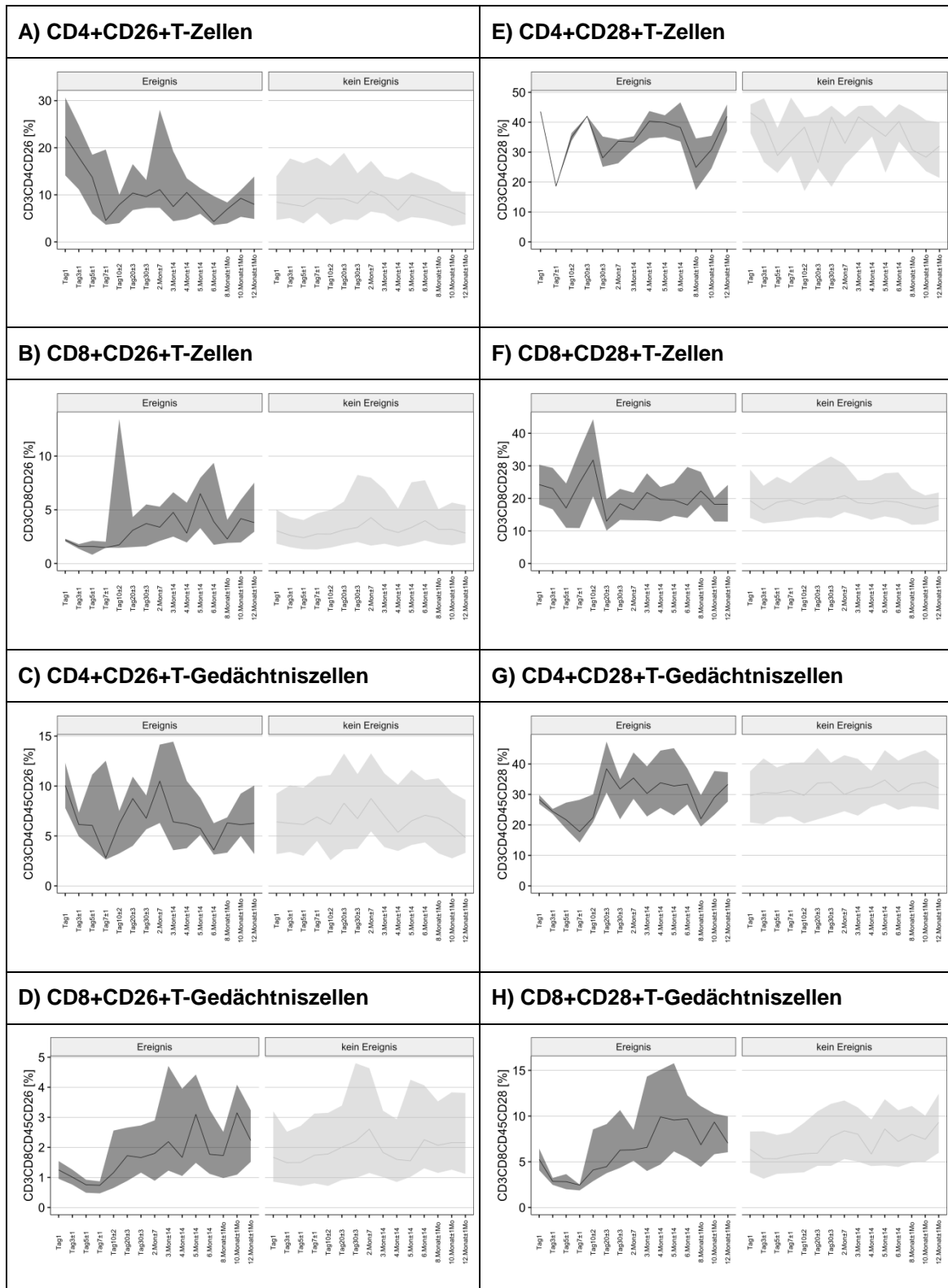


**Abbildung 33:** Vergleich der T-Zellsubpopulationen zwischen Patienten mit und ohne einer Abstoßungsreaktion. Der Verlauf zeigt den Median der T-Zellsubpopulation mit der 0.25- und 0.75-Perzentile (Schattierung).

### 3.9.2. Alle Infektionen:

Auch für das Ereignis alle Infektionen wird in Abbildung 34 deutlich, dass der Biomarker nicht geeignet erscheint, zwischen den Gruppen zu unterscheiden.

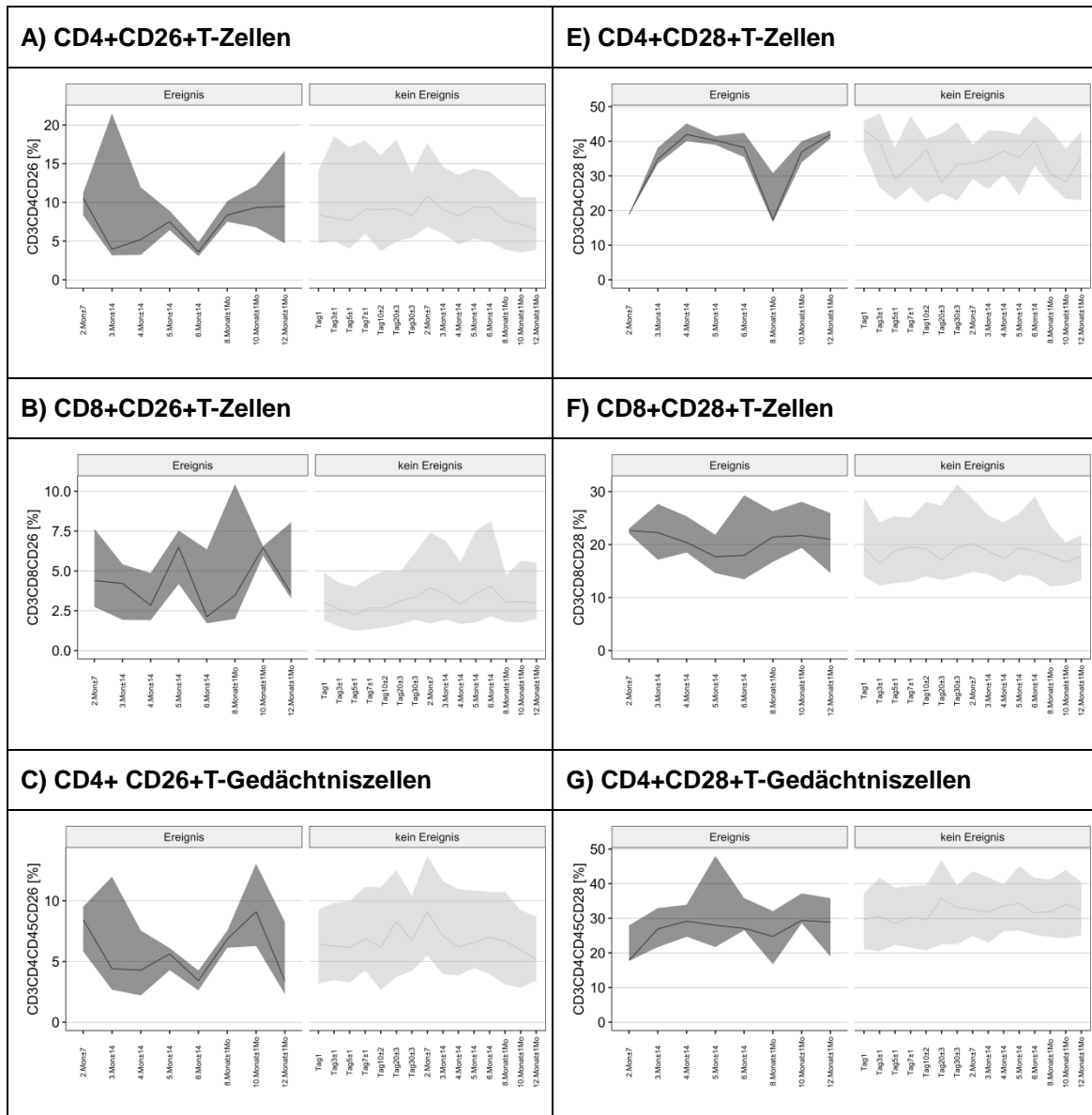
Die Graphiken veranschaulichen, dass bei allen T-Zellsubpopulationen der Median annähernd gleich verläuft, sowohl bei Patienten mit einer Infektion als auch bei Patienten ohne einer Infektion. Nur zu einzelnen Zeitpunkten unterscheiden sich die Medianwerte sichtbar, bei weiterhin großem Streubereich.

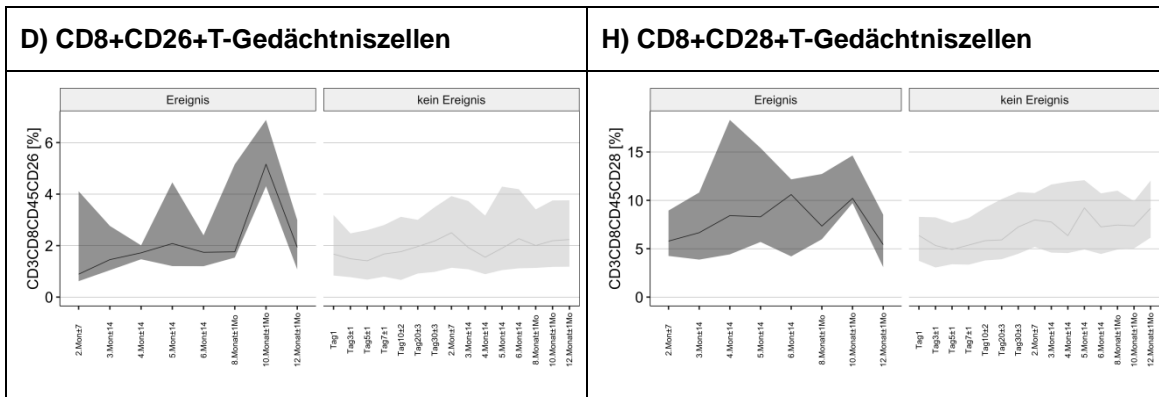


**Abbildung 34:** Vergleich der T-Zellsubpopulationen zwischen Patienten mit und ohne dem Ereignis alle Infektionen. Der Verlauf zeigt den Median der T-Zellsubpopulation mit der 0.25- und 0.75-Perzentile (Schattierung).

### 3.9.3. Virale Infektionen:

Beim Vergleich der Medianwerte der anteilmäßigen T-Zellsubpopulationen zwischen Patienten mit einer viralen Infektion und Patienten ohne einer viralen Infektion zeigt Abbildung 35 keine relevanten Unterschiede. Es gab lediglich einen einzelnen, herausstechenden Wert bei den  $CD8^+CD26^+$ -Gedächtniszellen in Monat 10±1Mo: Zu diesem Zeitpunkt hatten Patienten mit einer viralen Infektion einen höheren Median-Wert als Patienten ohne eine virale Infektion. Zusätzlich ist erneut ein breiter Interquantilabstand sichtbar.

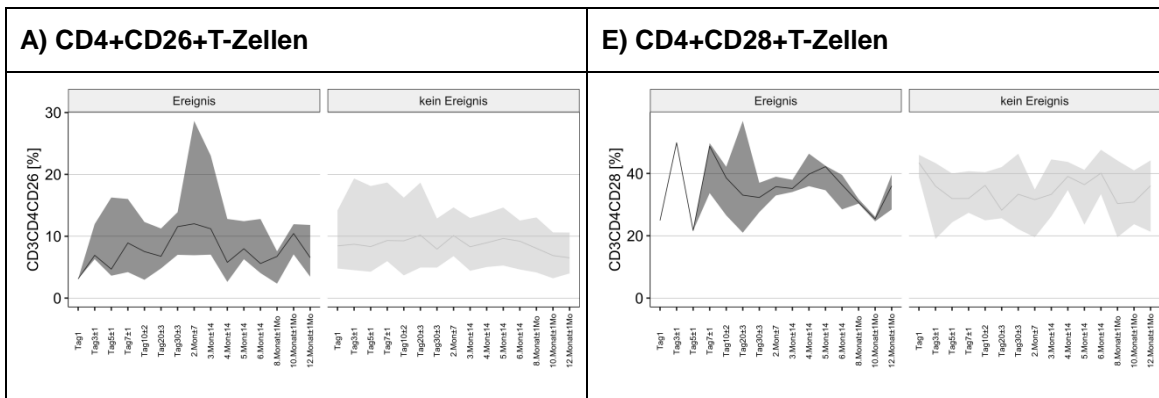


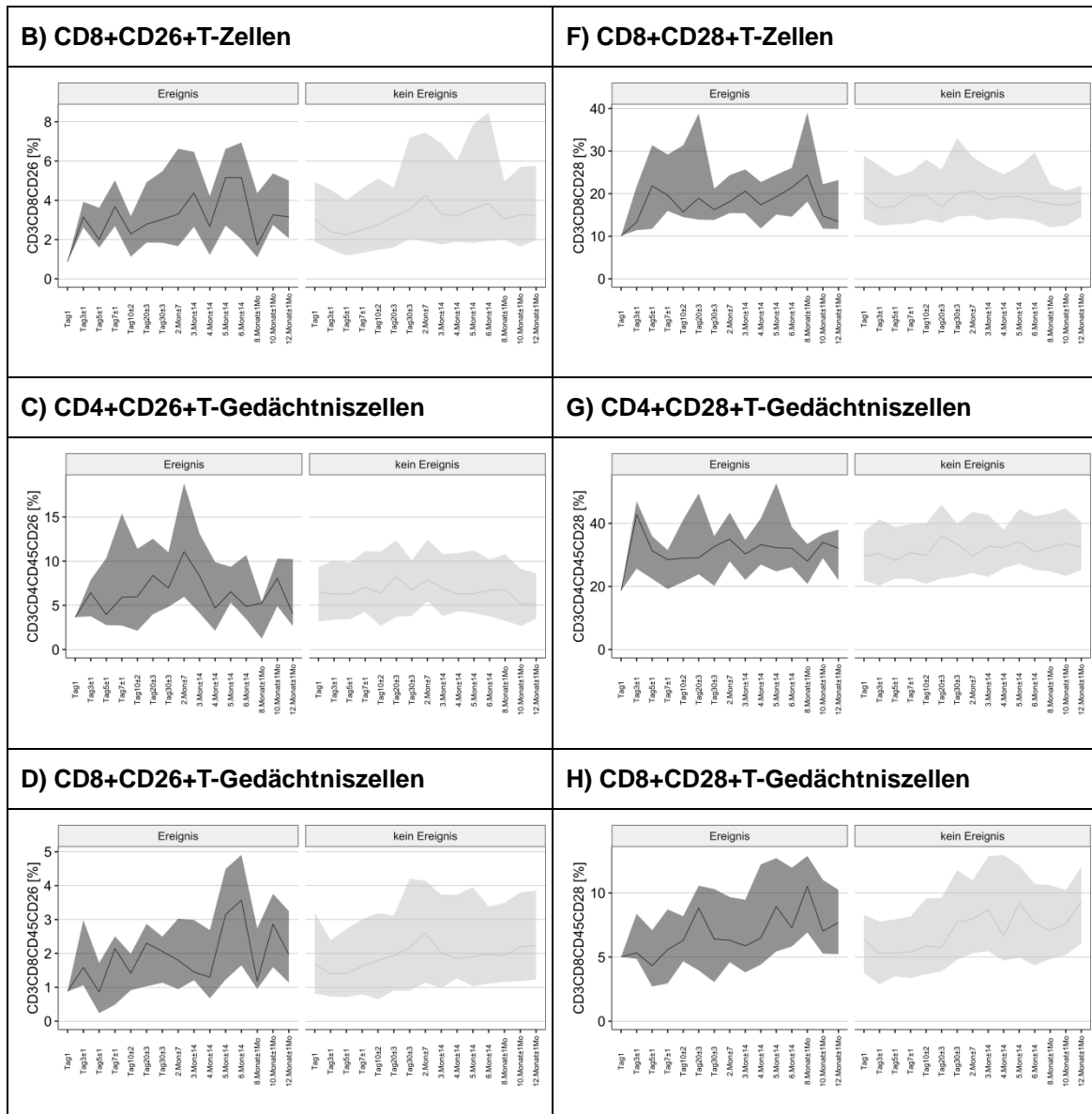


**Abbildung 35:** Vergleich der T-Zellsubpopulationen zwischen Patienten mit und ohne dem Ereignis virale Infektionen. Der Verlauf zeigt den Median der T-Zellsubpopulation mit der 0.25- und 0.75-Perzentile (Schattierung).

### 3.9.4. Kombiniertes Endpunkt Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust

Abbildung 36 veranschaulicht, dass auch die Verläufe der Medianwerte der CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen keine größeren Unterschiede zeigen beim Vergleich zwischen Patienten mit und ohne dem kombinierten Endpunkt Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust. Die Medianwerte und die eingezeichnete Streubreite deuten an, dass die Biomarker auf den T-Zellsubpopulationen nicht zwischen Patienten mit und ohne dem Ereignis unterscheiden können.





**Abbildung 36:** Vergleich der T-Zellsubpopulationen zwischen Patienten mit und ohne dem Ereignis kombinierter Endpunkt Transplantatverschlechterung und Transplantatverlust. Der Verlauf zeigt den Median der T-Zellsubpopulation mit der 0.25- und 0.75-Perzentile (Schattierung).

Zusammenfassend zeigten sich keine deutlichen Unterschiede im Vergleich der anteilmäßigen Medianwerte der T-Zellsubpopulationen zwischen Patienten mit einem Ereignis und Patienten ohne einem Ereignis im Verlauf von 12 Monaten ( $\pm 1$  Monat) nach einer Nierentransplantation.

### 3.10. Diagnostische und prädiktive Aussagekraft der Biomarker

Um nicht nur deskriptiv zeigen zu können, dass die Biomarker nicht geeignet erscheinen zwischen Patienten mit und ohne einem Ereignis zu unterscheiden,

wurde im nächsten Schritt eine Cox-Regression durchgeführt. Zur Berechnung der Hazard ratio (HR) konnten nur Patienten mit vollständig ausgefüllten Visiten berücksichtigt werden. Tabelle 15 zeigt für die einzelnen Biomarker die Observierungen an, d.h. wie viele Patienten in die Berechnung eingeschlossen werden konnten. Sie zeigt auch die Anzahl der Ereignisse an, die bei den eingeschlossenen Patienten auftraten.

**Tabelle 15:** Übersicht über die Observierungen (in die Cox-Regression eingeschlossenen Patienten) und Anzahl der Ereignisse bei den eingeschlossenen Patienten.

<b>Biomarker</b>	<b>Observationen Diagnostische Auswertung</b>	<b>Ereignisse Diagnostische Auswertung</b>	<b>Observatione Prädiktive Auswertung</b>	<b>Ereignisse Prädiktive Auswertung</b>
<b>CD4+CD26+ T-Zellen</b>				
Abstoßung	93	22	115	23
Alle Infektionen	93	55	115	65
Virale Infektionen	93	26	115	31
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	93	61	115	74
<b>CD4+CD28+ T-Zellen</b>				
Abstoßung	20	6	115	23
Alle Infektionen	20	14	115	65
Virale Infektionen	20	8	115	31
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	20	13	115	74
<b>CD4+CD26+ T-Gedächtniszellen</b>				
Abstoßung	93	22	115	23
Alle Infektionen	93	55	115	65
Virale Infektionen	93	26	115	31
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	93	61	115	74
<b>CD4+CD28+ T-Gedächtniszellen</b>				
Abstoßung	93	22	115	23
Alle Infektionen	93	55	115	65
Virale Infektionen	93	26	115	31
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	93	61	115	74
<b>CD8+CD26+ T-Zellen</b>				
Abstoßung	92	22	115	23
Alle Infektionen	92	54	115	65
Virale Infektionen	92	25	115	31
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	92	60	115	74
<b>CD8+CD28+ T-Zellen</b>				
Abstoßung	92	22	115	23
Alle Infektionen	92	54	115	65
Virale Infektionen	92	25	115	31
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	92	60	115	74

CD8+CD26+ T-Gedächtniszellen				
Abstoßung	91	21	115	23
Alle Infektionen	91	54	115	65
Virale Infektionen	91	25	115	31
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	91	59	115	74
CD8+CD28+T-Gedächtniszellen				
Abstoßung	91	21	115	23
Alle Infektionen	91	54	115	65
Virale Infektionen	91	25	115	31
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	91	59	115	74

### 3.10.1. Diagnostische Auswertung

In der diagnostischen Auswertung zeigte sich ein signifikantes Ergebnis in der T-Zellsubpopulation der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen für das Ereignis virale Infektionen: Patienten mit einem Anteil von 39,47% CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen hatten ein um 0,31-fach geringeres Risiko für virale Infektionen als Patienten mit einem Anteil von 23,03% in der Visite, in der die Diagnose gestellt wurde (diagnostische Auswertung).

In Tabelle 16 zeigte sich kein weiterer signifikanter Einfluss der Biomarker der T-Zellsubpopulationen auf die Ereignisse.

**Tabelle 16:** Die Ergebnisse der Cox-Regression der diagnostisch gemessenen zirkulierenden CD26 und CD28 positiven T-Zellsubpopulationen bei den jeweiligen Ereignissen. HR-Hazard Ratio, Lower=unteres 95% Konfidenzintervall, Upper=oberes 95% Konfidenzintervall, p=statistische Signifikanz

### Diagnostische Auswertung

CD4+CD28+ T-Zellen	HR	Lower	Upper	p
Abstoßung	0,40	0,06	2,49	0,81
Alle Infektionen	0,35	0,11	1,10	0,59
Virale Infektionen	0,86	0,14	5,33	0,47
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	0,47	0,14	1,52	0,68
CD4+CD26+ T-Zellen	HR	Lower	Upper	p
Abstoßung	0,86	0,58	1,27	0,69
Alle Infektionen	1,00	0,80	1,26	0,73
Virale Infektionen	0,96	0,67	1,37	0,44
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	0,98	0,79	1,21	0,73
CD8+CD28+ T-Zellen	HR	Lower	Upper	p
Abstoßung	1,16	0,74	1,81	0,70
Alle Infektionen	1,19	0,91	1,54	0,49
Virale Infektionen	1,22	0,83	1,78	0,36
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	1,08	0,81	1,45	0,68

<b>CD8+CD26+ T-Zellen</b>	<b>HR</b>	<b>Lower</b>	<b>Upper</b>	<b>p</b>
Abstoßung	1,08	0,93	1,25	0,59
Alle Infektionen	0,98	0,87	1,11	0,71
Virale Infektionen	0,94	0,75	1,18	0,43
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	1,01	0,91	1,13	0,72
<b>CD4+CD28+ T-Gedächtniszellen</b>	<b>HR</b>	<b>Lower</b>	<b>Upper</b>	<b>P</b>
Abstoßung	0,45	0,19	1,05	0,33
Alle Infektionen	0,67	0,42	1,07	0,35
Virale Infektionen	0,31	0,15	0,64	0,01
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	0,69	0,44	1,08	0,37
<b>CD4+CD26+ T-Gedächtniszellen</b>	<b>HR</b>	<b>Lower</b>	<b>Upper</b>	<b>p</b>
Abstoßung	0,61	0,32	1,17	0,44
Alle Infektionen	0,91	0,65	1,28	0,68
Virale Infektionen	0,74	0,41	1,31	0,32
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	0,85	0,61	1,19	0,59
<b>CD8+CD28+ T-Gedächtniszellen</b>	<b>HR</b>	<b>Lower</b>	<b>Upper</b>	<b>p</b>
Abstoßung	0,95	0,57	1,57	0,80
Alle Infektionen	0,95	0,69	1,32	0,68
Virale Infektionen	0,86	0,52	1,41	0,44
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	0,88	0,64	1,23	0,66
<b>CD8+CD26+ T-Gedächtniszellen</b>	<b>HR</b>	<b>Lower</b>	<b>Upper</b>	<b>p</b>
Abstoßung	0,85	0,52	1,38	0,74
Alle Infektionen	1,03	0,80	1,33	0,68
Virale Infektionen	0,88	0,57	1,36	0,43
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	0,95	0,72	1,25	0,71

### 3.10.1.1. Signifikantes Ergebnis im Detail:

Betrachtet man das einzige, signifikante Ergebnis der Cox-Regression im Detail, dann zeigt Tabelle 17, dass signifikante p-Werte sowohl beim Biomarker als auch bei der Einflussgröße Alter gemessen wurden.



**Tabelle 17:** Signifikantes Ergebnis der diagnostischen Cox-Regressionsanalyse für die CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> T-Gedächtniszellen für das Ereignis virale Infektionen im Detail. Low=unterer Wert der Kovariante, High=oberer Wert der Kovariante, Diff=Differenz zwischen oberem und unterem Wert der Kovariante, Effect=Hazard Ratio, Lower0.95=unteres 95%Konfidenzintervall, Upper0.95=oberes 95% Konfidenzintervall, p=statistische Signifikanz.

Kovariate	Low	High	Diff.	Effect	Lower.0.95	Upper.0.95
CD4+CD28+T-Gedächtniszellen	23,03	39,47	16,45	0,31	0,15	0,64
Alter	42,75	66	23,25	3	1,37	6,57
Risiko	0	1	1	0,62	0,25	1,53
Induktion	1	3	2	0,74	0,23	2,4
Geschlecht	1	2		1,24	0,54	2,84

Kovariate	Chi.Square	d.f.	P	Statistik	Statistik
CD4+CD28+T-Gedächtniszellen	9,92	1	<0,01	Obs	93
Geschlecht	0,26	1	0,61	Events	26
Alter	7,55	1	0,01	R2	0,18
Risiko	1,08	1	0,3	Dxy	0,48
Induktion	0,26	1	0,61		
Total	14,26	5	0,01		

Die Detailansicht verdeutlicht, dass neben dem Biomarker auch das Alter in einem Zusammenhang mit dem Ereignis stand: Patienten mit einem Alter von 66 Jahren und darüber hatten ein um 3-fach erhöhtes Risiko für das Ereignis virale Infektion als Patienten mit einem Alter von 42,74 Jahren oder jünger.

Zusammenfassen zeigte sich, dass bis auf eine Ausnahme, bei keinem Biomarker ein Zusammenhang mit einem Ereignis nachgewiesen werden konnte. Nur bei den CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen zeigte sich eine Assoziation mit viralen Infektionen, ebenso für das Alter.

### 3.10.2. Prädiktive Auswertung

Tabelle 18 zeigt, dass auch in der prädiktiven Auswertung der Cox-Regression die Biomarker in keinem signifikanten Zusammenhang mit den klinischen Ereignissen standen.

**Tabelle 18:** Die Ergebnisse der Cox-Regression der prädiktiv gemessenen zirkulierenden CD26 und CD28 positiven T-Zellsubpopulationen bei den jeweiligen Ereignissen. HR=Hazard Ratio, Lower=unteres 95% Konfidenzintervall, Upper=oberes 95% Konfidenzintervall, p=statistische Signifikanz.

### Prädiktive Auswertung

<b>CD4+CD28+ T-Zellen</b>	<b>HR</b>	<b>Lower</b>	<b>Upper</b>	<b>p</b>
Abstoßung	1,66	0,80	3,45	0,35
Alle Infektionen	1,04	0,77	1,40	0,73
Virale Infektionen	1,09	0,70	1,72	0,76
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	1,15	0,85	1,55	0,71
<b>CD4+CD26+ T-Zellen</b>	<b>HR</b>	<b>Lower</b>	<b>Upper</b>	<b>p</b>
Abstoßung	1,10	0,52	2,33	0,58
Alle Infektionen	1,03	0,66	1,61	0,74
Virale Infektionen	1,08	0,56	2,07	0,78
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	1,14	0,76	1,71	0,78
<b>CD8+CD28+ T-Zellen</b>	<b>HR</b>	<b>Lower</b>	<b>Upper</b>	<b>p</b>
Abstoßung	0,98	0,78	1,23	0,59
Alle Infektionen	0,97	0,85	1,12	0,72
Virale Infektionen	0,94	0,74	1,20	0,76
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	0,92	0,79	1,07	0,68
<b>CD8+CD26+ T-Zellen</b>	<b>HR</b>	<b>Lower</b>	<b>Upper</b>	<b>p</b>
Abstoßung	1,88	0,87	4,06	0,28
Alle Infektionen	1,14	0,80	1,61	0,65
Virale Infektionen	1,36	0,78	2,36	0,59
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	1,15	0,83	1,60	0,72
<b>CD4+CD28+ T-Gedächtniszellen</b>	<b>HR</b>	<b>Lower</b>	<b>Upper</b>	<b>p</b>
Abstoßung	1,31	0,75	2,28	0,46
Alle Infektionen	1,09	0,83	1,42	0,68
Virale Infektionen	1,33	0,82	2,15	0,59
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	1,13	0,87	1,46	0,71
<b>CD4+CD26+ T-Gedächtniszellen</b>	<b>HR</b>	<b>Lower</b>	<b>Upper</b>	<b>p</b>
Abstoßung	0,77	0,33	1,79	0,54
Alle Infektionen	0,97	0,60	1,56	0,74
Virale Infektionen	1,07	0,54	2,12	0,78
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	0,94	0,61	1,45	0,82
<b>CD8+CD28+ T-Gedächtniszellen</b>	<b>HR</b>	<b>Lower</b>	<b>Upper</b>	<b>p</b>
Abstoßung	1,18	0,65	2,15	0,55
Alle Infektionen	0,98	0,70	1,36	0,74
Virale Infektionen	1,13	0,69	1,86	0,74
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	0,95	0,69	1,29	0,82

CD8+CD26+ T-Gedächtniszellen	HR	Lower	Upper	p
Abstoßung	1,02	0,67	1,55	0,59
Alle Infektionen	0,97	0,75	1,25	0,74
Virale Infektionen	1,04	0,71	1,53	0,78
Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust	0,87	0,67	1,14	0,69

### 3.10.3. AUC (Area under curve) der prädiktiven Auswertung

Für die prädiktive Auswertung wurden mit XGboost ergänzend die AUC-Werte der ROC-Kurven ermittelt.

#### 3.10.3.1. Abstoßungen

In Tabelle 19 ist der beste AUC-Wert von 0,6 bei den CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen für das Ereignis Abstoßung sichtbar.

**Tabelle 19:** AUC-Werte der T-Zellsubpopulationen für das Ereignis Abstoßungen.

Biomarker	AUC für Abstoßungen	AUC StdDev	Ereignisse
CD3CD4CD28	0,6214017	0.09090953	Ereignisse (0/1): 91/23
CD3CD8CD28	0,4971423	0.1079364	Ereignisse (0/1): 91/23
CD3CD4CD26	0,523662	0.03094104	Ereignisse (0/1): 91/23
CD3CD8CD26	0,4979467	0.1094893	Ereignisse (0/1): 91/23
CD3CD4CD45CD28	0,5563727	0.07972299	Ereignisse (0/1): 91/23
CD3CD8CD45CD28	0,5467707	0.08560693	Ereignisse (0/1): 91/23
CD3CD4CD45CD26	0,56004	0.04924208	Ereignisse (0/1): 91/23
CD3CD8CD45CD26	0,5658383	0.02491576	Ereignisse (0/1): 91/23

#### 3.10.3.2. Alle Infektionen

Das Ereignis alle Infektionen zeigte in Tabelle 20 bei fast allen T-Zellsubpopulationen eine AUC von über 0,6. Einzige Ausnahme waren die CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen, hier betrug die AUC 0,55 für das Ereignis alle Infektionen.

**Tabelle 20:** AUC-Werte der T-Zellsubpopulationen für das Ereignis alle Infektionen.

Biomarker	AUC für alle Infektionen	AUC StdDev	Ereignisse
CD3CD4CD28	0,650356	0.04769258	Ereignisse (0/1): 50/64
CD3CD8CD28	0,6642853	0.06727536	Ereignisse (0/1): 50/64
CD3CD4CD26	0,628092	0.1180479	Ereignisse (0/1): 50/64
CD3CD8CD26	0,6062557	0.1086974	Ereignisse (0/1): 50/64
CD3CD4CD45CD28	0,5448207	0.07830038	Ereignisse (0/1): 50/64
CD3CD8CD45CD28	0,6318857	0.05274614	Ereignisse (0/1): 50/64
CD3CD4CD45CD26	0,6545897	0.0826687	Ereignisse (0/1): 50/64
CD3CD8CD45CD26	0,6700653	0.03450502	Ereignisse (0/1): 50/64

### 3.10.3.3. Virale Infektionen

Auch bei den viralen Infektionen lag die AUC bei fast allen T-Zellsubpopulationen über 0,6. Tabelle 21 zeigt die AUC der einzelnen T-Zellsubpopulationen im Detail.

**Tabelle 21:** AUC-Werte der T-Zellsubpopulationen für das Ereignis virale Infektionen.

Biomarker	AUC für virale Infektionen	AUC StdDev	Ereignisse
CD3CD4CD28	0,609023	0.08644004	Ereignisse (0/1): 83/31
CD3CD8CD28	0,535701	0.1002523	Ereignisse (0/1): 83/31
CD3CD4CD26	0,652063	0.05687819	Ereignisse (0/1): 83/31
CD3CD8CD26	0,6224753	0.1424116	Ereignisse (0/1): 83/31
CD3CD4CD45CD28	0,5947647	0.04188887	Ereignisse (0/1): 83/31
CD3CD8CD45CD28	0,637575	0.02005949	Ereignisse (0/1): 83/31
CD3CD4CD45CD26	0,6661533	0.08222881	Ereignisse (0/1): 83/31
CD3CD8CD45CD26	0,6243573	0.003643167	Ereignisse (0/1): 83/31

### 3.10.3.4. Kombinierter Endpunkt Transplantatverlust und Funktionsverschlechterung

Der kombinierte Endpunkt Transplantatverschlechterung und Funktionsverschlechterung konnte am genauesten von CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen vorhergesagt werden, die AUC betrug 0,7. Auch die CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen erreichten eine AUC von 0,65. Tabelle 22 zeigt, dass alle anderen Biomarker das klinische Ereignis nur mit geringem Unterschied zum Münzenwurf vorhersagen konnten.

**Tabelle 22:** AUC-Werte der T-Zellsubpopulationen für den kombinierten Endpunkt Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust.

Biomarker	AUC für kombinierten Endpunkt	AUC StdDev	Ereignisse
CD3CD4CD28	0,539362	0.1067185	Ereignisse (0/1): 41/73
CD3CD8CD28	0,648387	0.02639145	Ereignisse (0/1): 41/73
CD3CD4CD26	0,566109	0.0106096	Ereignisse (0/1): 41/73
CD3CD8CD26	0,7082263	0.0738667	Ereignisse (0/1): 41/73
CD3CD4CD45CD28	0,589773	0.03986896	Ereignisse (0/1): 41/73
CD3CD8CD45CD28	0,5219807	0.02780267	Ereignisse (0/1): 41/73
CD3CD4CD45CD26	0,578884	0.1062486	Ereignisse (0/1): 41/73
CD3CD8CD45CD26	0,595937	0.054935	Ereignisse (0/1): 41/73

Zusammenfassend zeigten sich bei den AUC-Werten (AUC>0,6) bessere Ergebnisse als in der Cox-Regression. Dennoch verdeutlichen auch die AUC-Werte, dass sich die Ereignisse mit Hilfe der Biomarker und der klinischen

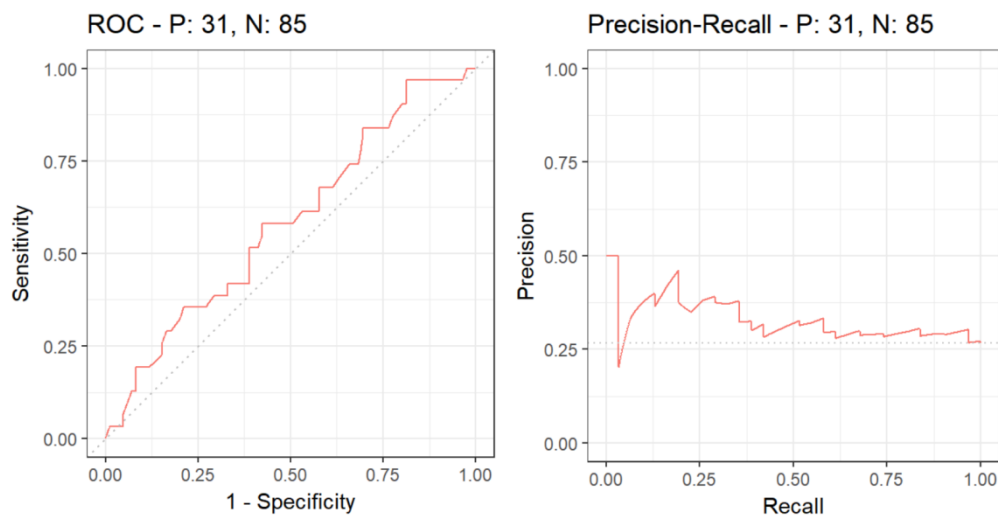
Variablen nicht oder nur geringfügig besser als beim Münzwurf unterscheiden lassen.

### 3.10.4. ROC-Analyse der $CD4^+CD28^+$ T-Gedächtniszellen für das Ereignis virale Infektionen

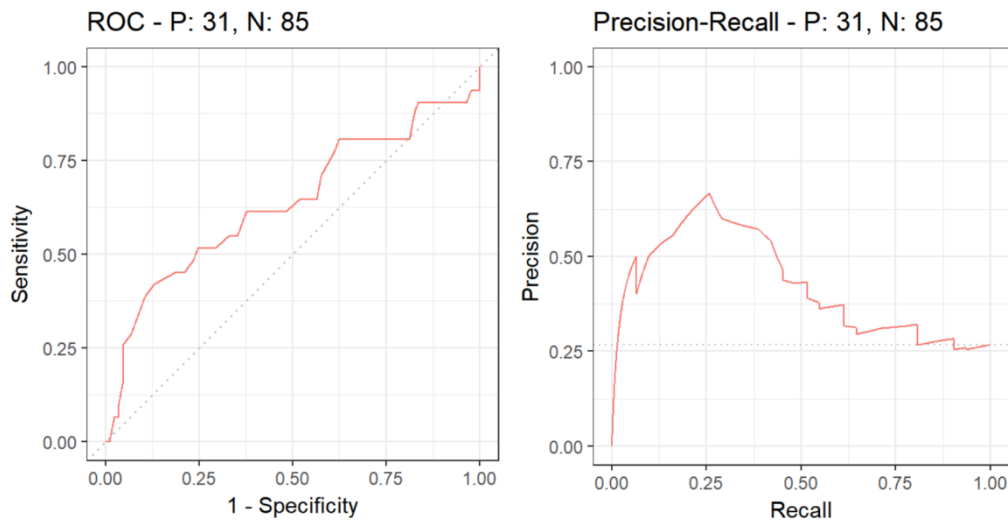
In der prädiktiven Cox-Regression zeigte sich kein Hinweis, dass die Biomarker geeignet wären, ein Ereignis vorherzusagen. Die AUC-Werte von  $>0,6$  sind verglichen mit der Cox-Regression jedoch bessere Werte und deuten darauf hin, dass der Biomarker zumindest besser als ein Münzwurf ist.

Um die geringe Diskrepanz zwischen den Ergebnissen der Cox-Regression und der AUC-Werte zu beleuchten, wurde exemplarisch die ROC-Kurve für die Vorhersage des Ereignisses virale Infektionen durch  $CD4^+CD28^+$ T-Gedächtniszellen und die klinischen Variablen dargestellt.

Mit XGBoost können ROC- und PR- (Precision und Recall) Kurven erstellt werden für den Einfluss des Biomarkers und für den Einfluss des Alters bei Studieneintritt.



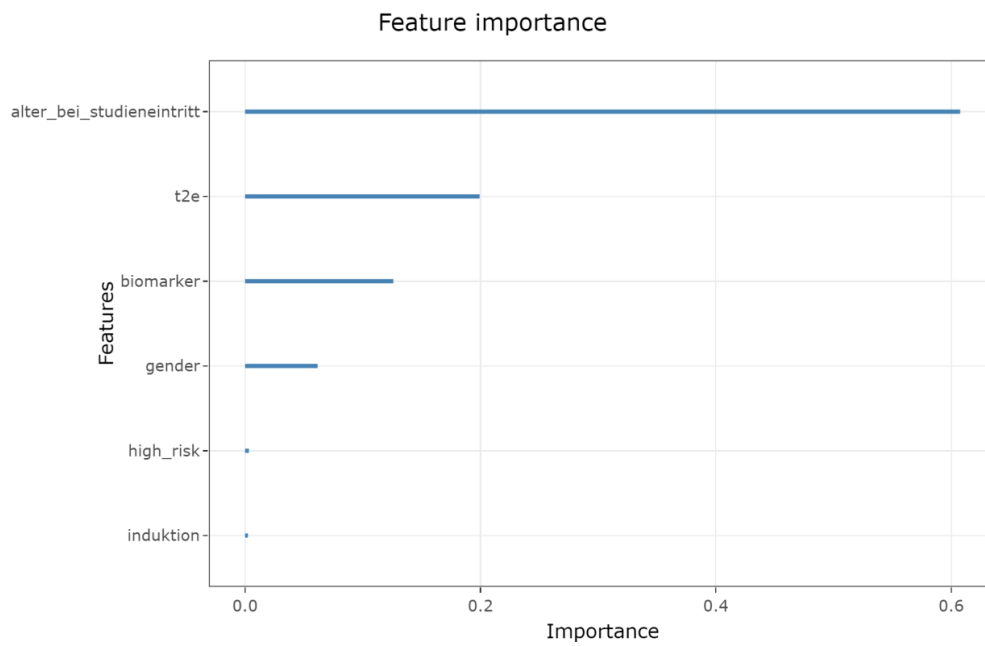
**Abbildung 37:** ROC-Kurve und PR-Kurve der  $CD4^+CD28^+$ T-Gedächtniszellen für das Ereignis virale Infektionen.



**Abbildung 38:** ROC-Kurve und PR-Kurve des Alters bei Studienantritt für das Ereignis virale Infektionen.

In Abbildung 37 und Abbildung 38 wird sichtbar, dass das Alter bei Studieneintritt sowohl auf die AUC der ROC-Kurve als auch auf die AUC der Precision-Recall-Kurve einen größeren Effekt hat als der Biomarker und daher ein größeres Risiko darstellt eine virale Infektion zu erleiden.

Bei der Kalkulation der AUC-Werte der ROC-Kurven kann ebenfalls die Wichtigkeit der Variablen auf die Vorhersagegüte des Modells ermittelt werden, die sogenannte Feature Importance. Abbildung 39 zeigt, dass der Einfluss des Alters und der Zeit bis zum Ereignis größer war für die Vorhersage von viralen Infektionen als der Einfluss des Biomarkers.



**Abbildung 39:** Einfluss ausgewählter Merkmale („Features“) auf die Vorhersage des Auftretens viraler Infektionen. T2e=time to event.

Zusammenfassend zeigte sich in der deskriptiven Analyse, der Cox-Regression und der Berechnung der AUC- Werte, dass die Biomarker nicht geeignet sind, zwischen Patienten mit und ohne einem Ereignis zu unterscheiden oder diese vorherzusagen.

## **4. Diskussion**

### **4.1. Verlauf der CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen über 12 Monate ( $\pm 1$ Mo) im Gesamtkollektiv nach einer Nierentransplantation**

#### **4.1.1. Verlauf CD26 exprimierender CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen**

Die CD26 Expression auf CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup>T-Zellen ist gering. Dennoch ist der Anteil CD26 exprimierender CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup>T-Zellen im Vergleich zu gesunden Probanden erhöht: Leicht et al. (173) untersuchten 49 Blutspender und konnten einen Anteil von CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen von deutlich unter 2% und einen Anteil von CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen von unter 1% feststellen. In der gleichen Studie zeigte sich bei 81 Patienten vor einer Nierentransplantation ein Median von 6,2% bei den CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen und ein Median von 1,8% bei den CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen. Verglichen mit diesen Werten sind die in der aktuellen Studie gemessenen Werte im ersten Jahr nach einer Nierentransplantation noch höher. Da die CD26 Expression auf T-Zellen mit der Aktivierung der T-Zellen ansteigt, kann die Hypothese aufgestellt werden, dass es bei Nierentransplantierten mehr aktivierte T-Zellen gibt als bei Gesunden.

Auf die CD26 Expression bei Nierentransplantierten wirken das proinflammatorische Milieu der Niereninsuffizienz, die Transplantation, apparente und inapparente Infektionen sowie Abstoßungsreaktionen und die (immunsuppressive) Medikation. Interessant wäre ein längerer Beobachtungszeitraum, ob es im Verlauf zu einer Senkung der CD26 Expression auf den T-Zellen kommt. Hypothetisch kann dieser CD26 Verlauf ein Ausdruck der Gesamtwirkung aus Aktivierung des Immunsystems und Hemmung durch die Immunsuppressiva sein und somit den Aktivierungszustand des Immunsystems widerspiegeln. Erschwerend kommt jedoch hinzu, dass die CD26 Expression bei Aktivierung nur kurzzeitig erhöht ist und somit für einen Verlauf kürzere Abstände genauere Interpretationen erlauben würden.

#### **4.1.2. Verlauf der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulation**

Beim untersuchten Patientenkollektiv zeigte sich ein Rückgang CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> T-Zellen von 71% auf 63% innerhalb von 12 Monaten.



Da im vorliegenden Studiendesign nicht die Intensität der CD28 Expression auf der Zelle untersucht wurde, sondern der Anteil CD28 exprimierender CD4<sup>+</sup>T-Zellen bedeutet das, dass ein Rückgang der CD28 Expression zu einer Erhöhung der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup> Zellen führt.

Das Alter ist einer der wichtigsten Gründe für die Entstehung von CD28<sup>null</sup>T-Zellen (144; 174).

Aber auch der CMV-Status und Infektionen beeinflussen die Anzahl der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen (175). Bei CMV seropositiven ESRD-Patienten konnte ein Anteil von bis zu 65% der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen gemessen werden (176).

Fagnoni et al. (148) haben bei 102 gesunden Probanden zwischen 20-105 Jahren die CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellsubpopulation im peripheren Blut untersucht. Es zeigte sich ein signifikanter Anstieg dieser T-Zellsubpopulation mit dem Alter. Beispielsweise hatten 20-39-jährige Probanden einen Anteil von 4±1% CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup> T-Zellen, 60-79-Jährige einen Anteil von 9±3% und 80-99 jährige Probanden einen Anteil von 10±2%.

Verglichen mit den Ergebnissen der aktuellen Studie war der Anteil der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup> T-Zellen in der Studie von Fanoni et al. deutlich niedriger.

Ein möglicher Grund hierfür ist, dass es sich in der aktuellen Studie nicht um gesunde Probanden, sondern um transplantierte Patienten handelte.

Kusztal et al. (177) haben den Anteil der CD28 Expression auf CD4<sup>+</sup>T-Zellen von 78 nierentransplantierten Patienten zwischen 17-68 Jahren erforscht. Es zeigte sich ein medianer Anteil der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen von 98% bei den 17-35 jährigen, 85% bei den 36-45 jährigen, 69% bei den 46-55 jährigen und 65% bei den 56-68 jährigen Patienten.

Das Durchschnittsalter dieses Patientenkollektives betrug 53 Jahre, somit liegen die in der aktuellen Studie gemessenen Werte in einem ähnlichen Bereich.

Diese Studien unterstützen die Hypothese, dass sich der Anteil CD28 exprimierender CD4<sup>+</sup>T-Zellen von denen gesunder Probanden unterscheidet.

Ein weiterer Faktor, der die Expression von CD28 reduzieren kann ist TNF $\alpha$  (178; 179; 150). TNF $\alpha$  gilt als ein bedeutendes proinflammatorisches Zytokin. Das untersuchte Patientenkollektiv war unterschiedlich langen Phasen eines proinflammatorischen Milieus ausgesetzt. Hierzu gehört die Zeit der terminalen Niereninsuffizienz vor der Transplantation, die Transplantation selbst und mögliche apparente oder inapparente Immunreaktionen nach der Transplantation. Bryl et al. (180) konnten durch Inkubation von T-Zell-Linien mit TNF $\alpha$  demonstrieren, dass es hierbei zu einer Herabregulation von CD28 auf CD4<sup>+</sup>T-Zellen kam und rezidivierende Stimulationen zu einem Verlust von CD28 führten. Die Studie von Fagiolo et al. (181) deutet zudem darauf hin, dass ältere Menschen einen höheren TNF $\alpha$ -Spiegel haben als jüngere und damit möglicherweise auch eine erhöhte Anzahl CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen.

#### **4.1.3. Verlauf der CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen**

Zuerst fällt auf, dass deutlich weniger CD8<sup>+</sup>T-Zellen CD28 exprimieren als CD4<sup>+</sup>T-Zellen. Ein Grund ist, dass mit steigendem Alter mehr CD8<sup>+</sup>T-Zellen ihre CD28 Expression verlieren im Vergleich zu den CD4<sup>+</sup>T-Zellen (147) und in unserem Kollektiv das Durchschnittsalter mit 53 Jahren relativ hoch lag.

In der bereits zitierten Studie von Fagnoni et al. (148) zeigte sich ein Anteil von 28 $\pm$ 4% CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen bei 20-39-jährigen gesunden Probanden. Bei 60-79-Jährigen lag dieser Anteil bereits bei 46 $\pm$ 4% und bei 80-99jährigen bei 60 $\pm$ 5%.

Der Median der CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen in diesem Patientenkollektiv lag zwischen 17,9% und 20,3%. Beim Vergleich mit der Studie von Fagnoni et al. kann die Hypothese aufgestellt werden, dass nierentransplantierte Patienten in Bezug auf die CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup> Zellen durch die Grunderkrankungen und die immunsuppressive Therapie möglicherweise ein "älteres" Immunsystem aufgewiesen haben als 80-99-jährige gesunde Probanden.

CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen werden wie auch die CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen mit rezidivierenden und chronischen Infektionen, viralen Infektionen sowie einigen Autoimmunkrankheiten und Tumoren in Verbindung gebracht.

Durch den höheren Anteil  $CD8^+CD28^{null}$ -T-Zellen bei nierentransplantierten Patienten kann ein immunsuppressiver Effekt in Bezug auf das Transplantatüberleben und Abstoßungsreaktionen postuliert werden, wie beispielsweise die Arbeit von Goronzy et al. zeigt (149).

#### **4.1.4. Verlauf der $CD26^+$ und $CD28^+$ -T-Gedächtniszellen**

Dass Gedächtniszellen einen entscheidenden Einfluss auf das Transplantatüberleben haben und Manipulationen der Gedächtniszellen ein Schlüssel zur Toleranzentwicklung darstellen können, zeigt das große Potential der Gedächtniszellen in der Transplantationsmedizin. Noch ist wenig bekannt, welche Stellung kostimulatorische Moleküle wie CD26 und CD28 bei Gedächtniszellen einnehmen. In der aktuellen Studie wurde der Anteil  $CD26$  bzw.  $CD28$  exprimierender T-Gedächtniszellen bestimmt und im ersten Schritt ihr Verlauf über die ersten 12 Monate nach der Transplantation analysiert.

##### **4.1.4.1. CD26 Expression bei T-Gedächtniszellen**

Interessant ist, dass nach 12 Monaten der Anteil  $CD4^+CD26^+$ -Gedächtniszellen in etwa der Höhe des Ausgangswertes wie vor der Transplantation liegt. Somit ergibt sich zunächst kein Hinweis darauf, dass mit Hilfe dieses Biomarkers eine Veränderung des Aktivierungszustands des Immunsystems messbar wäre. Ob andere Subpopulationen hierfür geeignet sind, muss in weiteren Studien untersucht werden. Interessant sind auch übergreifende Studien, die z.B. den Einfluss des Schlafes auf die  $CD4^+$ -Gedächtniszellen untersuchen (182). Sie verdeutlichen, wie vielen unterschiedlichen Einflüssen die Biomarker-Expression unterliegt.

Bei den  $CD8^+CD26^+$ -Gedächtniszellen lässt sich im Verlauf ein leichter Anstieg dieser T-Zellsubpopulation messen. Ob dieser signifikante, aber dennoch sehr geringe Anstieg sich im weiteren Verlauf fortsetzt, ist noch zu erforschen.

In der Literatur werden  $CD8^+$ -Gedächtniszellen beschrieben, die eine hohe Expression von CD26 aufweisen ( $CD26^{high}$ ). Ibegbu et al. (183) konnten z.B. zeigen, dass  $CD8^+$ -Gedächtniszellen nach einer Influenza-Infektion hohe CD26 Expressionen aufweisen. Bei chronischen Infektionen wie CMV, EBV und

HIV zeigte sich keine hohe CD26 Expression auf den CD8<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen. In diesem Zusammenhang wurde die Hypothese aufgestellt, dass eine hohe CD26 Expression auf eine erfolgreiche Bildung von Gedächtniszellen schließen lässt.

Hanato et al. (111) haben zudem postuliert, dass CD8<sup>+</sup>CD26<sup>high</sup>T-Zellen den Gedächtniszellen (frühen T<sub>EM</sub> Zellen, CD45RA<sup>-</sup> CCR7<sup>-</sup>) zugeordnet werden können und gezeigt, dass diese ein erhöhtes zytotoxisches Potential zeigten (durch Sekretion von Granzym B, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  and sFasL).

Somit kann die Hypothese aufgestellt werden, dass CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen das Risiko für Abstoßungsreaktionen erhöhen können. Zur besseren Evaluierung ist eine differenzierte Untersuchung der einzelnen Gedächtniszellensubpopulationen notwendig.

Diese Hypothese wird von der Arbeit von Matteucci et al. (184) unterstützt: Sie untersuchten die CD26 Expression bei 20 gesunden Probanden und 55 Patienten mit Typ 1 Diabetes. Hierbei wurde CD26 auf CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen untersucht: auf naiven Zellen (N, CD45RA<sup>+</sup>CCR7<sup>+</sup>), zentralen Gedächtniszellen (CM, CD45RA<sup>-</sup>CCR7<sup>+</sup>), Effektor Gedächtniszellen (EM, CD45RA<sup>-</sup>CCR7<sup>-</sup>) und terminal differenzierten Effektor Gedächtniszellen (T<sub>EMRA</sub>, CD45RA<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup>). Es zeigte sich, dass Patienten mit DM Typ 1 niedrigere CM und N Zellen aufwiesen, die T<sub>EMRA</sub> Zellen jedoch erhöht waren.

#### 4.1.4.2. CD28 Expression bei T-Gedächtniszellen

Während die meisten naiven T-Zellen CD28 exprimieren, ist der Anteil CD28 exprimierender T-Gedächtniszellen deutlich geringer. Im Verlauf über 12 Monate stieg der Anteil der CD28 Expression sowohl bei den CD4<sup>+</sup> als auch bei den CD8<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen signifikant an. Der Anstieg war bei den CD8<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen stärker als bei den CD4<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen.

Ein Paradigma in der Immunologie war bis vor wenigen Jahren, dass Gedächtniszellen unabhängig von Kostimulatoren aktiviert werden. Doch dieses Paradigma ist ins Wanken geraten. Aktuelle Studien zeigen, dass CD8<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen in Anwesenheit von CD28 eine stärkere Sekundärantwort

bilden (185; 186). Auch bei CD4<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen führt CD28 zu einer gesteigerten Proliferation und beeinflusst das Verhältnis verschiedener Gedächtniszell-Subpopulationen (mit CD28 mehr T<sub>EM</sub> und weniger T<sub>CM</sub>) (187). Vor diesem Hintergrund kann der in der aktuellen Studie nachgewiesene ansteigende Anteil CD28 exprimierender CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen zu der Hypothese führen, dass CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen bei Allo-Reaktivität zu einer stärkeren Immunantwort gegen das Transplantat führen. Interessant wäre ein Vergleich mit einer Population gesunder Probanden um zu sehen, ob und wie stark sich der Anteil CD28 exprimierender Gedächtniszellen unter dem immunologischen Risiko der Nierentransplantation von gesunden Probanden unterscheidet. Da die ersten 12 Monate nach der Nierentransplantation verschiedenen akuten Veränderungen unterlegen sind (wie z.B. der Operation, starken Schwankungen der Immunsuppressiva usw.) kann auch die Erforschung des weiteren Verlaufs der CD28 Expression bei Gedächtniszellen zu neuen Erkenntnissen über die Funktion der Gedächtniszellen führen.

#### **4.2. Einfluss immunologischer Faktoren auf zirkulierende CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen im Vergleich**

##### ***4.2.1. Vergleich zwischen Patienten mit drei oder weniger HLA Mismatches und Patienten mit mehr als drei HLA Mismatches***

Der Einfluss eines optimalen HLA-Mismatches wurde bereits in mehreren Studien untersucht (188). Takemoto et al. (189) beispielsweise analysierten 3562 Nierenpaare. Eine Niere wurde HLA-kompatibel transplantiert, die andere wurde nicht HLA-kompatibel transplantiert. Nach 10 Jahren wiesen HLA-kompatibel transplantierte Nieren ein höheres Transplantatüberleben, weniger Abstoßungsereignisse und ein niedrigeres Risiko für Transplantatverlust infolge von Abstoßungsreaktionen auf.

Ein gutes HLA-Match ist aber nicht die alleinige Voraussetzung für ein langes Transplantatüberleben. Mehrere Studien konnten zeigen, dass die HLA-Kompatibilität zugunsten anderer, nicht HLA-abhängiger Faktoren zu vernachlässigen ist. Hierzu gehören beispielsweise die Qualität des Spenderorgans, die Dauer der kalten Ischämiezeit, das Alter von Spender und Empfänger und die Stärke der immunsuppressiven Therapie (190; 191).

In der Studie von Gillich et al. (192) wurden 77 explantierte Nierenpaare verglichen. Von einem Nierenpaar wurde eine Niere lokal in Bonn transplantiert. In Bonn wurde nur die Blutgruppe, die Wartezeit und ein aktuell negatives Crossmatch berücksichtigt, nicht aber die HLA-Mismatches. Die andere Niere wurde gemäß der Eurotransplant (ET) Kriterien transplantiert. Der Vergleich des Anteils funktionierender Transplantate zeigt zwischen beiden Gruppen keinen signifikanten Unterschied (Wilcoxon-Test,  $p=0,62$ ).

Terasaki et al. (193) untersuchten das Transplantatüberleben zwischen verwandten, nichtverwandten und Leichenspenden. Und obwohl es bei den Leichenspenden ein besseres HLA-Mismatch gab (durchschnittliche HLA-A,-B und DR-Mismatche 3,6) war das Transplantatüberleben schlechter als bei nichtverwandten Lebendspenden mit schlechterem HLA-Mismatch (durchschnittliche HLA-A,-B und DR-Mismatche 4,1). Als Ursache wurde hier ein unverletztes Transplantat gesehen.

Diese Studien zeigen einerseits die Bedeutung eines guten HLA-Matches auf, andererseits verdeutlichen sie auch den Einfluss HLA-unabhängiger Faktoren. Zusammenfassend hat ein Patient mit mehr HLA-Mismatches ein höheres immunologisches Risiko als ein Patient mit weniger HLA-Mismatches wenn alle anderen Faktoren gleich sind.

Die Hypothese, dass es mit zunehmenden HLA Mismatches auch zu Veränderungen in der anteilmäßigen Expression der Biomarker CD26 und CD28 auf den T-Zellsubpopulationen kommt bestätigt sich in der aktuellen Studie nicht. Es zeigten sich nur einzelne signifikante Unterschiede.

Eine Erklärung für diesen Verlauf kann in den nicht HLA-abhängigen Faktoren und insbesondere in der immunsuppressiven Therapie gesehen werden. Die direkt nach der Transplantation eingenommene Dosis der Immunsuppressiva ist hoch und wird schrittweise reduziert. Somit kann der Beobachtungszeitraum von 12 Monaten zu kurz sein und Veränderungen der Biomarkerexpression, die erst unter der Standard-Immunsuppression entstehen, möglicherweise nicht erfassen.

#### **4.2.2. Vergleich zwischen Patienten mit und ohne PRA**

Patienten mit PRA >15% hatten eine geringere Anzahl von CD28 exprimierenden CD4<sup>+</sup>T-Zellen und CD4<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen als Patienten ohne PRA. Da rezidivierende Immunstimulationen zu einem Verlust der CD28-Expression führen, besteht die Hypothese, dass PRA-positive Patienten eine erhöhte Immuntätigkeit aufweisen als Patienten ohne PRA, was zur Entstehung von CD28<sup>null</sup>T-Zellen beiträgt.

Da der Effekt auf die CD26-Expression und die CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen vergleichsweise gering war, kann die Hypothese aufgestellt werden, dass der Effekt der PRA entweder vorrangig auf die CD28<sup>+</sup>Expression der CD4<sup>+</sup>T-Zellen gewirkt hat oder sich die Biomarker auf den anderen T-Zellsubpopulationen schneller regenerieren konnten.

#### **4.2.3. Vergleich zwischen Patienten mit Lebendnierentransplantation und Patienten mit Leichennierentransplantation**

Beim Vergleich zwischen Patienten mit Lebendnierentransplantation und Patienten mit Leichennierentransplantation zeigten sich nur einzelne signifikante Unterschiede.

Hierbei ist zu berücksichtigen, dass lebendnierenranplantierte Patienten auch ABO inkompatibel transplantiert wurden und dann auch eine andere Induktionstherapie erhielten. Da der Vergleich zwischen ABO kompatibel und ABO inkompatibel transplantierten Patienten keinen signifikanten Einfluss der Biomarkerexpression gezeigt hatte, sind die einzelnen Unterschiede hierdurch nicht zu erklären.

Beim Vergleich der Induktionsarten waren signifikante Unterschiede beim Anteil der CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup> exprimierenden T-Zellen sichtbar: die Median-Werte der CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen zwischen Lebendspende und ATG-Induktion zeigt sich ein entgegengerichteter Trend: Während der Median bei ATG-Induktion signifikant höher ist im Vergleich zu Standard-Induktion und Werte von 6,9% (M4-6) und 6,7% (M7-13) erreicht, liegt der Median bei Lebendspende im Vergleich zu Leichenspende signifikant niedriger bei Median-Werten von 3,3% (M4-6) und 2,6% (M7-13). Somit kann der Rückschluss gezogen werden, dass die

Unterschiede im Anteil CD26 exprimierender CD8<sup>+</sup>T-Zellen zwischen Lebend- und Leichennierenspende nicht auf den Unterschieden der Induktionstherapie beruhen.

Eine Hypothese für diesen Unterschied ist die längere kalte Ischämiezeit bei Leichennierentransplantierten sowie eine niedrigere Organqualität durch Ischämie-bedingte Schädigungen und den Strebeprozess des Spenders (56).

Da ein niedrigerer Anteil CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen mit einem weniger aktiven Immunsystem assoziiert ist, kann die Hypothese aufgestellt werden, dass der niedrigere Anteil CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen bei Lebendnierentransplantierten mit einem geringeren Abstoßungsrisiko assoziiert ist. Weitere Studien sind notwendig um diese Hypothese zu prüfen.

#### ***4.2.4. Vergleich zwischen Patienten mit und ohne präemptiver Nierentransplantation***

Einige Patienten haben die Möglichkeit präemptiv transplantiert zu werden. Hierbei kann es sich um eine Lebend- oder Leichennierentransplantation handeln. Eine präemptive Transplantation ist mit einem erniedrigten Mortalitätsrisiko und einem erhöhten Transplantatüberleben bei Lebendnierentransplantationen assoziiert (194–198). Hierbei muss allerdings berücksichtigt werden, dass in vielen Studien nicht alle systematischen Fehler vermieden werden können. So sind in den meisten Studien präemptiv transplantierte Patienten u.a. aus einer besseren sozialen Schicht, haben ein höheres Einkommen, eine private Krankenversicherung und/oder hatten teilweise auch eine bessere Gesundheit (199; 200).

Doch es gibt möglicherweise auch positive Effekte einer Dialyse vor der Transplantation. Die im Rahmen der dialysepflichtigen, terminalen Niereninsuffizienz auftretende Urämie wirkt immunsuppressiv. Asderakis et al. (194) konnten eine erhöhte Rate an akuten Abstoßungsreaktionen bei präemptiver Nierentransplantation im Vergleich zu nicht präemptiver Transplantation nachweisen. Als eine Hypothese für diese erhöhte Abstoßungsrate wird die fehlende immunsuppressive Urämie genannt. Eine weitere Erklärung wäre eine schlechtere Compliance.



Da die präemptive Nierentransplantation mit einem besseren Mortalitätsrisiko und Transplantatüberleben assoziiert ist, bestand die Hypothese, dass sich auch die Biomarkerexpression unterscheiden würde. Diese Hypothese wurde durch die Studie nicht unterstützt.

#### **4.2.5. Vergleich zwischen Patienten mit und ohne präformierte Antikörper**

Bei den Patienten mit präformierten Antikörpern zeigten sich ähnliche Veränderungen wie bei den Patienten mit PRA: der Anteil CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen und CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen war im Vergleich zu Patienten ohne präformierte Antikörper niedriger. Eine weitere Hypothese ist, dass die immunsuppressive Therapie bei Patienten mit PRA oder präformierten Antikörpern zu schwach war, sodass es zu klinisch inapparenten Immunreaktionen gekommen ist, welche zur Veränderung der Biomarker-Expression geführt haben.

#### **4.2.6. Vergleich zwischen Patienten mit und ohne ABO-inkompatibler Nierentransplantation**

Der Vergleich zirkulierender CD26 und CD28 exprimierender T-Zellsubpopulationen zwischen Probanden mit und ohne ABO-inkompatibler Nierentransplantation zeigte keine signifikanten Unterschiede. Leicht et al. (173) hatten eine signifikant erhöhte CD26-Expression auf CD8<sup>+</sup>T-Zellen bei ABO-inkompatibel nierentransplantierten Patienten im Vergleich zu ABO-kompatibel transplantierten Patienten gemessen. Einschränkend muss in der Studie die kleine Anzahl der Patienten berücksichtigt werden. Eine Erklärung für die in dieser Studie nicht signifikanten Ergebnisse sind die im Vorfeld durchgeführten Immunadsorptionen, die die Anzahl der Anti-A- und Anti-B- Antikörper vor der Transplantation auf ein Minimum reduzierten. Die anschließende immunsuppressive Therapie verhindert eine erneute Produktion von anti-ABO-Antikörpern. Die gute Behandlung der Spender und Empfänger vor einer Lebendnierentransplantation hat dazu geführt, dass sich Transplantationsergebnisse kaum von denen einer Leichennierentransplantation unterscheiden. Die Expression der Biomarker unterstützt diese Aussage. Zusätzlich gibt es das Phänomen der Akkomodation.

Hierbei bilden sich nach einer ABO-inkompatiblen Nierentransplantation im Verlauf Antikörper gegen die Blutgruppenantigene, die aber nicht zu einer Abstoßungsreaktion führen. Die Hintergründe dieses Phänomens sind noch nicht vollständig verstanden (201).

#### **4.2.7. Vergleich zwischen Patienten mit und ohne Hochrisikokonstellation**

Bei Patienten mit einer Hochrisikokonstellation (HR) bestand die Hypothese, dass sich die Anzahl CD26 und CD28 exprimierender T-Zellen deutlich unterscheiden würden. Die aktuelle Studie zeigte jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den Vergleichsgruppen.

Tatsächlich zeigte sich in der aktuellen Studie nur bei den PRA-positiven Patienten (PRA>15%) ein Einfluss auf die CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen. Dieser ist im Gesamtkollektiv der HR-Gruppe nicht mehr erkennbar.

Da auch beim Vergleich der Patienten mit und ohne DGF und Patienten mit über 3 HLA-Mismatches kein signifikanter Unterschied in der Biomarker-Expression festzustellen war, ist das Ergebnis stimmig.

Eine Hypothese, warum es gerade in der Gruppe mit dem größten immunologischen Risiko keine signifikanten Unterschiede in der Biomarker-Expression gab, könnte die immunsuppressive Therapie sein.

### **4.3. Einfluss der Induktionstherapie auf zirkulierende CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen**

#### **4.3.1. Vergleich zwischen Patienten mit Standard-Induktion und Rituximab-Gabe**

Dass bei dem Vergleich keine signifikanten Unterschiede gefunden wurden ist mit der Wirkungsweise beider Medikamente (Basiliximab und Rituximab) zu begründen. Beide hemmen die Proliferation der Immunzellen, bewirken aber keine Lymphopenie wie bei ATG. Ein signifikanter Unterschied war nicht erwartet.

#### **4.3.2. Vergleich zwischen Patienten mit ATG-Induktion und Standard-Induktion**

Die Induktionstherapie mit ATG (Thymoglobulin®) verändert die Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen nachhaltig (202). Die im ATG enthaltenen Antikörper sind v.a. gegen humane T-Zellen gerichtet. Je höher die Dosis, umso mehr T-Zellen werden durch ATG eliminiert. In hohen Dosierungen kann es auch zu einer Reduktion von B-Zellen, NK-Zellen und dendritischen Zellen kommen (203). Bereits wenige Stunden nach Gabe von ATG kommt es zu einer Reduktion der T-Zellen im Blut. Die dann einsetzende homöostatische Proliferation der T-Zellen führt dazu, dass sich das Verhältnis von CD4<sup>+</sup> zu CD8<sup>+</sup>T-Zellen verändert. Während anfangs beide T-Zellsubpopulationen anzahlmäßig reduziert wurden, erreichen CD8<sup>+</sup>T-Zellen bereits ca. 8 Wochen nach ATG-Gabe ihren Ausgangswert wie vor der Transplantation (204). Anders sieht es bei den CD4<sup>+</sup> T-Zellen aus. Sie erholen sich langsamer, da ihre Proliferation vom Thymus abhängig ist. Da dieser im Erwachsenenalter eine Involution durchläuft, ist die Proliferation reduziert (205). Ein anderes Ergebnis haben Xia et al. (206) an Mäusen festgestellt. Bei ihnen hatten sich die CD4<sup>+</sup>T-Zellen schneller regeneriert. Eine Erklärung hierfür könnte ein junges Alter der Versuchsmäuse und damit auch eine höhere Aktivität des Thymus sein. Tang et al (204) konnten zeigen, dass CD4<sup>+</sup>T-Zellen über 78 Wochen unter 30% des Ausgangswertes liegen verglichen zum Zustand vor der Transplantation.

Die nach der ATG-induzierten Reduktion der T-Zellen einsetzende antigen-induzierte und homöostatische Proliferation führt zudem dazu, dass vermehrt Gedächtnis T-Zellen entstehen, v.a. Effektor CD4<sup>+</sup>Gedächtniszellen (207; 208) Gleichzeitig zeigte sich, dass nach ATG Gabe die Anzahl der TREGs anstieg (204; 209). Zudem hat ATG einen immunmodulierenden Effekt (206; 150).

Vor diesem Hintergrund wurden die Medianwerte CD26 und CD28 exprimierender T-Zellsubpopulationen gemessen und diese zwischen der Standard-Induktionen und der Induktion mit ATG verglichen.

#### 4.3.2.1. CD26 Expression bei CD4<sup>+</sup>-und CD8<sup>+</sup>T-Zellen

Der Anteil der Zellen, die CD26 exprimieren, war nach ATG-Induktion bei den CD4<sup>+</sup>T-Zellen bis Woche 4 und bei den CD8<sup>+</sup>T-Zellen in der ersten Woche im Vergleich zur Standardinduktion erniedrigt. Bei den CD4<sup>+</sup>T-Zellen war im weiteren Verlauf kein signifikanter Unterschied mehr zwischen dem Anteil der CD26-Expression messbar, bei den CD8<sup>+</sup>T-Zellen hingegen stieg der Anteil CD26-exprimierender Zellen im Verlauf signifikant an und lag ab Woche 2-4 höher als in der Standardinduktion.

Hier kann die Hypothese aufgestellt werden, dass die ATG-Induktion nicht nur zu einer anzahlmäßigen Abnahme der T-Zellen führt, sondern auch anfangs den Anteil CD26-exprimierender naiver T-Zellen reduziert. Die anschließende schnellere Vermehrung der CD8<sup>+</sup>T-Zellen führt auch zu einer höheren CD26-Expression als in der Standard-Induktionsgruppe.

Die aktuellen Untersuchungsergebnisse zeigen auch, dass nach ATG-Induktion der Anteil CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup> und der Anteil CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen höher ist im Vergleich zur Standard-Induktion. Möglicherweise, weil die CD8<sup>+</sup>T-Zellen nach ATG-Gabe schneller proliferieren. Weitere Studien sind notwendig um zu erforschen, ob sich dieser Trend im Verlauf fortsetzt und welche Auswirkungen diese Expression der Biomarker in der Transplantationsmedizin haben.

#### 4.3.2.2. CD28 Expression bei CD4<sup>+</sup>T-Zellen

Wird zunächst die Expression der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen betrachtet, liegt der Median der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen bei der Standard-Induktion zwischen 65-74% und entspricht somit annähernd dem Verlauf des Biomarkers im Gesamtkollektiv. Nach ATG-Induktion liegt der Median nur noch bei 33-41%. Das bedeutet, dass unter der ATG-Induktion nicht nur die Anzahl der CD4<sup>+</sup>T-Zellen (nach Tang et al. (204)), sondern dieser Studie zufolge zusätzlich auch die Anzahl CD28 exprimierender CD4<sup>+</sup>T-Zellen signifikant gesunken ist. Hierdurch ist auch der stark immunsupprimierende Effekt erklärbar, da nicht nur die CD4<sup>+</sup>T-Zellen anzahlmäßig reduziert werden, sondern auch der Anteil an CD4<sup>+</sup>T-Zellen die CD28 exprimieren, eines der bedeutendsten

kostimulatorischen Moleküle, sinkt. Dieser Effekt hält über den gesamten Beobachtungszeitraum an.

Die Studie von Duftner et al. (210) beschäftigte sich mit dem Effekt von ATG auf CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen. Sie konnten zeigen, dass bei 5 transplantierten Patienten die CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen 6 Stunden nach ATG-Gabe signifikant niedriger waren (bzw. ganz verschwunden waren) als bei den 11 transplantierten Kontrollpatienten, die nicht mit ATG behandelt wurden.

Welche Rolle die CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen in der Transplantationsmedizin spielen, ist noch nicht ausreichend untersucht (152). Diese Studie konnte aber zeigen, dass über den gesamten Beobachtungszeitraum in der ATG-Gruppe deutlich weniger CD4<sup>+</sup>T-Zellen messbar waren, die CD28 exprimieren. Somit lag der Anteil der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen in der ATG Gruppe signifikant über dem der Standardinduktion. Das Ergebnis steht daher im Gegensatz zur Studie von Duftner et al., die die Hypothese vertreten, dass durch ATG-Behandlung die Anzahl der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen reduziert werden kann. Da die Anzahl der CD4<sup>+</sup>T-Zellen jedoch insgesamt nach ATG über einen langen Zeitraum reduziert ist, ist der Effekt der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen im Rahmen einer Transplantation in weiteren Studien zu evaluieren.

#### 4.3.2.3. CD28 Expression bei CD8<sup>+</sup>T-Zellen

Betrachtet man die CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen, die sich nach Tang et al. (204) deutlich schneller von der ATG-Induktion erholen, zeigt sich in der vorliegenden Studie ein anderes Bild. Der Median der CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen bei der Standardinduktion beträgt 15-19% und liegt damit nur knapp unter dem Wert des Biomarkers im Verlauf des Gesamtkollektivs. Der Median der CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen bei der ATG-Induktion beträgt jedoch Werte zwischen 22-37% und ist somit höher ( $p < 0,05$ ) als im Verlauf des Gesamtkollektivs. Da sich das Gesamtkollektiv aus 86 Standardinduktionen und 18 ATG-Induktionen zusammensetzt, wird ersichtlich, dass die Unterschiede der ATG-Induktionsgruppe kaum berücksichtigt wurden.

Diese Studie zeigt, dass nach ATG-Induktion die Medianwerte der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen signifikant niedriger sind als bei der Standard-Induktion,

gleichzeitig aber die Medianwerte der CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen signifikant höher sind als bei der Standard-Induktion.

Eine Hypothese für die Entstehung erniedrigter CD28 Expression nach ATG-Gabe wird in der Studie von Weimer et al. (211) aufgestellt. Sie untersuchten 84 Nierentransplantierte nach 4 Monaten und 1 Jahr und sahen, dass CD28 auf den T-Zellen niedriger ( $p < 0,05$ ) waren im Vergleich zu vor der Transplantation. Als Ursache wurden Anti-CD28-Ak im ATG diskutiert und dass damit die CD28<sup>+</sup>T-Zellen deutlich mehr durch das ATG reduziert wurden als CD28<sup>null</sup>T-Zellen, deren Anteil anstieg. In Anbetracht der aktuellen Studie ist dieser Mechanismus unwahrscheinlich. Er könnte zwar den Rückgang der CD28-Expression auf den CD4<sup>+</sup>T-Zellen erklären, nicht aber den erhöhten Anteil CD28<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T-Zellen, die auch in Woche 1 und Woche 2-4 vorhanden waren, dem Zeitraum, in dem die CD8<sup>+</sup>T-Lymphozyten laut Tang et al. (204) durch ATG reduziert werden.

Eine andere Hypothese ist, dass sich die CD28 Expression der T-Zellsubpopulationen unterscheidet, weil die ATG-Induktion nur Patienten mit einem erhöhten immunologischen Abstoßungsrisiko gegeben wurde und die restlichen Patienten die Standardinduktion erhielten. Beim Vergleich zwischen Hochrisikopatienten und nicht Hochrisikopatienten konnte jedoch kein Unterschied in der CD28-Expression festgestellt werden.

Im Vergleich mit anderen Ergebnissen zeigten sich weitere Unterschiede. Müller (202) z.B. beschrieb, dass CD8<sup>+</sup>T-Zellen nach der ATG-Therapie u.a. durch homöostatische Proliferation schneller wieder ihr Ausgangsniveau erreichten. Er beschrieb auch, dass es bei dieser homöostatischen Proliferation v.a. zu einer Proliferation von CD8<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen kommt. Vor diesem Hintergrund wurde in der aktuellen Studie ein niedrigerer Anteil CD28 exprimierender CD8<sup>+</sup>T-Zellen nach ATG Induktion im Vergleich zur Standard-Induktion erwartet. Das Gegenteil ist jedoch der Fall.

Wenn der Anteil CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen in der aktuellen Studie bei der ATG-Induktion höher ist als in der Standard-Induktion, kann die Hypothese

aufgestellt werden, dass bei der ATG-Induktion weniger CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>-T-Zellen vorhanden sind und somit das Risiko für Abstoßungen erhöht ist.

Eine Arbeit von Liu et al. (212) zeigt zusätzlich auf, dass die Dosierung von ATG einen Einfluss darauf hat, wie sich die einzelnen T-Zellsubpopulationen nach der ATG-Gabe erholen. Da in der aktuellen Studie nur ein Dosierungsregime gegeben wurde, muss auch dieser Aspekt in Folgestudien untersucht werden.

#### 4.3.2.4. Gedächtniszellen

Eine ATG-Induktion führt dazu, dass die Anzahl aller T-Zellsubpopulationen stark sinkt. Trotzdem gibt es Hinweise darauf, dass bestimmte Gedächtniszellsubtypen resistenter gegen ATG sind als die restlichen T-Zellen und durch homöostatische Proliferation mehr Umwandlungen von naiven- zu Gedächtniszellen stattfinden (213–215).

##### CD4<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen

Pearl et al. (216) untersuchten die T-Zellsubpopulationen bei insgesamt 13 lebendniere-transplantierten Patienten zwischen 14 bis 56 Jahren. 5 Patienten erhielten eine Induktionstherapie mit Alemtuzumab und DSG (Desoxypergualin) ohne anschließende Immunsuppression, 5 Patienten erhielten rATG und im Anschluß Sirolimus und 3 Patienten erhielten Daclizumab und als Dauertherapie Tacrolimus und MMF. Es erfolgte eine Blutabnahme vor der Nierentransplantation und danach 1x wöchentlich über 4 Wochen. Hierbei wurde nachgewiesen, dass die Anzahl CD8<sup>+</sup>T-Zellen zu >98% und die Anzahl CD4<sup>+</sup>T-Zellen zu >99% sank. Die Anzahl einer T-Zellgedächtnispopulation, der CD4<sup>+</sup>CD45RA-CD62L T-Zellen, sank signifikant weniger um nur 90% (p=0.001). Nach der ATG Induktion waren daher 88±3% der T-Zellen CD4<sup>+</sup>CD45RA-CD62L T-Zellen. Auch in vitro zeigte sich bei Blutproben von gesunden Probanden, die mit steigenden Konzentrationen Alemtuzumab (0.4, 4 and 40 Ig/mL) oder rATG (5, 50, 500 Ig/mL) behandelt wurden eine Reduktion der naiven CD4<sup>+</sup>T-Zellen, RA<sup>+</sup>Gedächtniszellen und zentralen Gedächtniszellen in der rATG-Gruppe auf 2±1%, 5±2% und 12±4%. Der Anteil der CD4<sup>+</sup>CD45RA-CD62L T-Zellen stieg von 26 ± 8 auf 82 ± 6% der CD4<sup>+</sup>T-Zellen an.

Auch Studien an Mäusen zeigten, dass nach einer ATG- bzw Anti-Lymphozyten-Serum Gabe die Gedächtniszellen nicht so stark reduziert wurden wie die naiven T-Zellen. Insbesondere die CD4<sup>+</sup>Effektor Gedächtniszellen stellten nach der Therapie den größten Anteil der CD4<sup>+</sup>T-Zellen dar (217–219).

Die Studie von Ayasoufi et al. an Mäusen untersuchte den Effekt auf T-Zellen nach Gabe von ATG vor und während der Transplantation (220).

In der aktuellen Studie ist eine signifikant niedrigere Anzahl CD26 und CD28 exprimierender CD4<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen in den Visiten V1z-V2z bzw. V1z-V3z nachweisbar. Doch dieser Unterschied ist im Verlauf nicht länger signifikant. Bei den CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen zeigte sich ab V3z sogar eine Umkehr: ab V3z exprimieren in der Induktionsgruppe mit ATG mehr CD4<sup>+</sup>T-Zellen CD26, ohne jedoch eine Signifikanz zu erreichen. Die vorliegende Auswertung verdeutlicht, dass die signifikanten Unterschiede in der CD26 und CD28 Expression der CD4<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen nur für 2-3 Monate nach der Gabe persistierten. Da auch die Studie von Pearl et al. (216) nur die ersten 4 Wochen nach Gabe von ATG untersucht hatten, sind weitere Studien notwendig, um die langfristigen Effekte der ATG-Induktion auf die Anzahl der T-Zellsubpopulationen und die Biomarkerexpression zu identifizieren.

#### CD8<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen

In der aktuellen Studie exprimieren CD8<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen anteilmäßig mehr CD28 und auch mehr CD26 als in der Standardinduktions-Gruppe. Damit ist ihre Expression ähnlich denen der naiven CD8<sup>+</sup>T-Zellen. Eine Hypothese hierzu ist, dass diese Ähnlichkeit aus der homöostatischen Proliferation entsteht: wenn mehr naive CD8<sup>+</sup>T-Zellen CD28 positiv sind und es im Rahmen der homöostatischen Proliferation vermehrt zur Bildung von Gedächtniszellen aus diesen CD8<sup>+</sup>T-Zellen führt, wird auch die Expression der Biomarker entsprechend weitergegeben.

Die Ergebnisse von Wittenbecher et al. (221) unterstützen diese Hypothese. Sie untersuchten Patienten mit allo HSCT (Allotransplantation hämatopoetischer Stammzellen Transplantation ) und ATG-Behandlung. Es zeigte sich, dass die Proliferationsraten von CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>T-Zellsubpopulationen zu jedem



gemessenen Zeitpunkt nach der Transplantation höher waren als die der CD8<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen.

Um die Bedeutung dieser Änderung in der CD26 und CD28 Expression auf den CD8<sup>+</sup>Gedächtniszellen nach ATG Gabe zu untersuchen bedarf es weiterer Studien.

#### **4.4. Assoziation klinischer Ereignisse nach der Transplantation mit zirkulierenden CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen**

##### ***4.4.1. Vergleich zwischen Patienten mit und ohne DGF***

Zhai et al. (222) untersuchten die Rolle von CD26 bei primärer DGF bei Lungentransplantationen in einem Modell mit Ratten. Die Ratten-Spenderlungen hatten eine 18 stündige kalte Ischämiezeit. Ein Teil dieser Lungen wurde künstlich mit einem CD26-Inhibitor durchblutet, ein anderer Teil diente als Kontrolle. Durch Inhibition der enzymatischen CD26/DPP IV Aktivität konnte die Inzidenz und Schwere einer DGF bei der Rattenlungentransplantation signifikant reduziert werden. Zudem zeigte sich ein positiver Effekt auf die transplantationsassoziierte Ischämie.

In der aktuellen Studie konnte kein Unterschied in der Anzahl CD26 und CD28 exprimierender T-Zellsubpopulationen festgestellt werden. Anders interpretiert bedeutet das, dass sich die Expression der Biomarker nicht unterscheiden, auch wenn die GFR wie bei der DGF reduziert ist. Eine Hypothese ist, dass die Definition einer DGF nicht nur immunologische Ursachen einschließt sondern auch nicht immunologische. Viele Faktoren bei Spender und Empfänger haben Einfluss auf eine mögliche DGF und wurden nicht zusätzlich berücksichtigt (z.B. Kreatininwert des Empfängers vor der Transplantation, Alter des Spenders, body mass index (BMI) u.a.) (223).

##### ***4.4.2. Vergleich zwischen Patienten mit und ohne dnDSA***

In der vorliegenden Studie zeigte sich bei den Visiten in Woche 1, Monat 2-3 und Monat 4-6 eine signifikant höhere Anzahl CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen und CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen bei Patienten mit dnDSA im Vergleich zu Patienten ohne dnDSA. Die Hypothese war, dass die erhöhte Anzahl

CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen bei Patienten mit dnDSA Zeichen einer erhöhten Aktivität des humoralen Immunsystems ist.

Eine Überwachung von zirkulierenden CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen könnte demnach die dnDSA Diagnostik ergänzen. Zur Diagnostik der dnDSA werden noch verschiedene Tests angewendet, die sich in ihrer Sensitivität und Spezifität unterscheiden. Zudem herrschen nicht zu allen Tests allgemein gültige Testauswertungen mit Referenzwerten. Auch können mit der sensitiven Luminex-Methode falsch positive Ergebnisse vorkommen, z.B. wenn bei denaturierten Proteinen sonst "versteckte" Epitope erkannt werden (224). Die Bestimmung von zirkulierenden CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen ist leicht durchführbar und im Vergleich schneller und billiger.

In einer Studie von Lee et al. (225) konnte gezeigt werden, dass auch der Zeitpunkt des Auftretens der dnDSA entscheidend ist. Lee et al verglichen über einen Zeitraum von 17 Jahren eine Gruppe nierentransplantierter Patienten mit chronischer Abstoßung mit einer Gruppe nierentransplantierter Patienten ohne Abstoßung. 96% der Probanden mit chronischer Abstoßung entwickelten dnDSA im Vergleich zu 48% bei Patienten ohne Abstoßung (p=0.0001). 60% der Patienten mit chronischer Abstoßung entwickelten dnDSA im ersten Jahr nach der Transplantation, in der Kontrollgruppe keiner. Die HR (Hazard Ratio) für dnDSA in ersten Jahr nach Transplantation für das Ereignis Transplantatverlust lag bei 7.77 (p=0.001, Multivariate Analyse).

Vor diesem Hintergrund ist der weitere Verlauf der Biomarker interessant. Die Hypothese ist, dass im weiteren Verlauf der signifikante Unterschied sinkt bzw. nicht mehr vorhanden ist, da das immunogene Potential bei Bildung von dnDSA mehr als ein Jahr nach der Transplantation geringer ist.

Das Auftreten von dnDSA kann einer Abstoßungsreaktion lange vorausgehen (nach Lee et al. (225) 6 Monate bis 8 Jahre) oder auch erst im Rahmen der Abstoßungsreaktion nachweisbar sein. Deswegen ist eine weitere Hypothese, dass das immunogene Potential von dnDSA durch die Bestimmung der CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen und T-Gedächtniszellen ergänzt werden kann: Ein vorhandener dnDSA in Kombination mit erhöhter CD26<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-Expression auf T-

Zellen und T-Gedächtniszellen kann ein höheres immunogenes Potential darstellen als ein vorhandener dnDSA ohne erhöhte Biomarkerexpression. Zur Überprüfung dieser Hypothese sind weitere Studien notwendig.

Ein höheres HLA-Mismatch stellt einen Risikofaktor für die Entstehung von dnDSA dar, insbesondere bei einem Mismatch für HLA-DR und -DQ (22; 23). Daher stellte sich die Frage, ob ähnliche Veränderungen der Biomarker auch beim Gruppenvergleich zwischen Probanden mit max. 3 HLA-Mismatches versus Probanden über drei HLA Mismatches bestehen. In der aktuellen Studie zeigen sich jedoch keine vergleichbaren Veränderungen. Eine Erklärung hierfür ist die nicht separate Erfassung von HLA-DQ und-DR-Mismatches.

Einschränkend muss erwähnt werden, dass die Anzahl der Patienten mit dnDSA in der aktuellen Studie gering war. Sie lag zwischen 2 bis 5 Patienten pro Visite.

#### **4.5. Weitere Beobachtungen**

Vergleicht man die Ergebnisse zirkulierender CD26<sup>+</sup>- und CD28<sup>+</sup>-Zellsubpopulationen zwischen Patienten mit dnDSA und Patienten mit präformierten Antikörpern, zeigten sich in der Gruppe der präformierten Antikörper nur in Woche 1 signifikante Unterschiede im Anteil der CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen und der CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen. Hier war der Anteil CD26<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T-Zellen bei den Patienten mit präformierten Antikörpern sogar niedriger als bei den Patienten ohne präformierte Antikörper. Als Schlussfolgerung kann der erhöhte Anteil CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen nur bei dnDSA aber nicht bei präformierten Antikörpern nachgewiesen werden. Die Ursache für diese Unterschiede kann in der immunsuppressiven Therapie liegen. Eine weitere Ursache kann sein, dass nicht alle präformierten Antikörper gegen Donor-Antigene gerichtet sind und somit keinen Einfluss auf das Transplantatüberleben und die Aktivität des Immunsystems haben müssen.

Die meisten signifikanten Unterschiede fanden sich beim Vergleich der PRA, dnDSA, präformierten Antikörper und dem Vergleich der Standard-Induktion mit der ATG-Induktion. Tabelle 23 zeigt, dass mit Ausnahme von den dnDSA die Unterschiede zu einer im Vergleich erhöhten anteilmäßigen CD28 Expression

auf den CD4<sup>+</sup>T-Zellen und CD4<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen in der Gruppe ohne den Risikofaktor bzw. der Standard-Induktion führten. Gleichzeitig zeigte sich in der Gruppe mit dem Risikofaktor eine erhöhte anteilmäßige Expression von CD28 auf CD8<sup>+</sup>T-Zellen.

**Tabelle 23:** Zusammenfassung der auffälligsten Veränderungen der Biomarkerexpression zwischen Patienten mit und ohne PRA, präformierten Antikörpern und ATG-Induktion.

Risikofaktor	Risikofaktor nicht vorhanden	Risikofaktor vorhanden
PRA>15%	Mehr CD4+CD28+T-Zellen (p<0,05 in V1z-5z) Mehr CD4+CD28+T-Gedächtniszellen (p<0,05 in V1z,V3z,V4z,V5z)	Mehr CD8+CD28+T-Zellen (p<0,05 in V2z,V3z)
Präformierte Antikörper	Mehr CD4+CD28+T-Zellen (p<0,05 in V1-5) Mehr CD4+CD28+T-Gedächtniszellen (p<0,05 in V1z,V2z,V3z,V5z)	Mehr CD8+CD28+T-Zellen (p<0,05 in V1z,V2z,V3z)
ATG-Induktion	Mehr CD4+CD28+T-Zellen (p<0,05 in V1z-V5z) Mehr CD4+CD28+T-Gedächtniszellen (p<0,05 in V1z,V2z,V3z)	Mehr CD8+CD28+T-Zellen (p<0,05 in V1z-V5z) Mehr CD8+CD28+T-Gedächtniszellen (p<0,05 in V2z,V3z,V4z,V5z)

#### 4.6. Korrelation der Biomarker CD26 und CD28 auf den verschiedenen T-Zellsubpopulationen zur Steroiddosis und der Konzentration von MPA und Tacrolimus

In einer vorausgegangenen Studie von Shipkova et al. (226) wurde die CD26 Expression auf T-Zellen in vitro untersucht, nachdem sie mit unterschiedlichen Konzentrationen Ciclosporin A, Tacrolimus, Mycophenolsäure, Sirolimus und Everolimus inkubiert wurden. Hierzu wurden gesunden Probanden mononukleäre Zellen entnommen, mit Phythämagglutinin stimuliert und 72 Stunden inkubiert. Mittels FACS wurde nach 24, 48 und 72 Stunden die CD26 Expression auf CD3<sup>+</sup>T-Zellen gemessen. Ein signifikanter Abfall der CD26 Expression konnte nach 72 Stunden bei den mit 1 nM Tacrolimus und den mit 100nM Mycophenolsäure inkubierten Zellen nachgewiesen werden. In einer nachfolgenden Studie von Leicht et al. (173) wurde nach einer Korrelation zwischen der CD26 Expression auf CD3<sup>+</sup>T-Zellen und den Plasmakonzentrationen der Immunsuppressiva Tacrolimus, MPA, AcMAG und fMPA gesucht. Es konnte keine Korrelation nachgewiesen werden.

In der aktuellen Studie wurde der Zusammenhang zwischen der im peripheren Blut gemessenen Medikamentendosis von Tacrolimus sowie der oral eingenommenen Dosis von MPA und Steroiden und der Anzahl CD26 und

CD28 exprimierender T-Zellsubpopulationen untersucht. Hintergrund war die Hypothese, dass die immunsuppressiven Medikamente ihre Wirkung v.a. an den T-Zellen entfalten und somit zu Veränderungen in der CD26 und CD28 Expression führen können. Tatsächlich waren einige Korrelationen zwischen den Medikamentendosen und der Biomarker-Expression sichtbar. Die meisten Korrelationen waren in Woche 1 und Monat 2-3 bei MPA und der Steroiddosis nachweisbar. Es bestanden jedoch Korrelationen zu den Biomarkern auf verschiedenen T-Zellsubpopulationen, sodass kein einheitlicher Trend erkennbar war. Beispielsweise zeigte sich eine Korrelation von MPA in der ersten Woche mit CD26<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Gedächtniszellen und CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup> T-Zellen und in Monat 2-3 mit CD28<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>Gedächtniszellen. Auch die Höhe der Korrelation erreichte meistens nur knapp das Signifikanzniveau. Eine Erklärung für die fehlende Korrelation zwischen den Medikamentendosen und den Biomarkern auf den T-Zellsubpopulationen könnte darin liegen, dass die immunsuppressive Therapie in der ersten Zeit nach der Transplantation noch sehr hoch ist und erst langsam reduziert wird. Daher werden die T-Zellen stärker gehemmt und somit wird eine Veränderung der Expression der Biomarker im Rahmen einer Aktivierung verhindert. Ein weiterer Ansatz könnte der Vergleich der CD26 und CD28 Expression auf T-Zellsubpopulationen zwischen Probanden mit hoher und niedriger immunsuppressiver Medikation sein. Da aber Medikamentendosen wie bei Tacrolimus an die Talspiegel angepasst sind, sind hier keine signifikanten Veränderungen zu erwarten. Andererseits konnte eine Arbeit von Llinas-Mallol et al. (227) zeigen, dass nierentransplantierte Patienten nach Absetzen des Steroids Änderungen in den T-Zellsubpopulationen zeigten. So hatten sie eine signifikant erniedrigte Anzahl von T-Lymphozyten ( $p < 0,001$ ) und CD4<sup>+</sup>T-Zellen ( $p = 0,046$ ). Solche Veränderungen könnten auch zu Veränderungen der Biomarker-Expression führen.

Ein Vergleich zwischen HR-Patienten, die in der Regel eine höhere immunsuppressive Therapie erhalten und nicht HR-Patienten wurde bereits im vorhergehenden Abschnitt beschrieben und erbrachte keine signifikanten Veränderungen in der Expression der Biomarker. Zusammenfassend zeigen sich sowohl in der Vorstudie von Shipkova et al. (226) und in der aktuellen

Studie einzelne Veränderungen der Biomarker im Rahmen der immunsuppressiven Therapie. Ob sich eine bessere Korrelation der Medikamentendosen und der Expression der Biomarker bei Patienten in der späteren Phase nach einer Nierentransplantation zeigt muss mit weiteren Studien untersucht werden.

#### **4.7. Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Anzahl CD26 exprimierender T-Zellsubpopulationen und dem Ereignis Abstoßung?**

Bei Abstoßungsreaktionen kommt es zu einer T-Zellaktivierung (228) und daher auch zu einer Veränderung in der Expression der CD26 Expression. Somit bestand die Hypothese, dass die Veränderungen in der Expression von CD26 Ereignisse wie Abstoßungsreaktionen voraussagen oder die Diagnostik einer Abstoßungsreaktion ergänzen können. Das wurde bereits in mehreren Studien erforscht.

Wieland et al. (229) untersuchten bei 35 Patienten die CD26-Expression an Tag 7( $\pm$ 1) und Tag 21( $\pm$ 2) nach erstmaliger Nierentransplantation. Hierbei wurde den Patienten Blut abgenommen und die Biomarker-Expression auf stimulierten (Phytohämagglutinin 2.5 $\mu$ g/10<sup>6</sup>Zellen) und nicht stimulierten CD3<sup>+</sup>T-Zellen ausgewertet. Es zeigte sich, dass Patienten ohne Abstoßungsreaktion an Tag 7 signifikant weniger CD3<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen hatten als Patienten mit einer Abstoßungsreaktion, in der ROC-Analyse lag der cutoff bei 42.1% CD3<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen.

Leicht et al. (173) haben die CD26-Expression auf T-Zellsubpopulationen von 49 Blutspendern und 87 nierentransplantierten Patienten gemessen. Hierzu wurden die Biomarker aus EDTA Vollblut an den Tagen 0 (= 1 Tag vor der Transplantation) sowie an den Tagen 3( $\pm$ 1), 7( $\pm$ 1) und 14( $\pm$ 1) nach der Transplantation bestimmt. 21 Patienten entwickelten in den ersten 60 Tagen nach der Transplantation eine oder mehrere Abstoßungsreaktionen. An Tag 3 und 7 zeigte sich bei Patienten mit einer Abstoßungsreaktion ein höherer Anteil CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen als bei Patienten ohne Abstoßungsreaktion. An Tag 3 konnte für den Biomarker bei einem Cut-off von 2,2% eine Sensitivität von 60% und eine Spezifität von 85% ermittelt werden.

Auch der Einfluss von DPPIV-Inhibitoren in der Transplantation unterstreicht den Einfluss von CD26 in der Transplantationsmedizin. Exemplarisch zeigen die Forschungsergebnisse von Kubota et al. und Jungraithmayr et al..

Kubota et al. (230) führten bereits 1992 einen Versuch mit DPPIV-Inhibitoren in vivo an Mäusen durch. Nach s.c. Injektion der DPPIV-Inhibitoren Al-boroPro oder Pro-boroPro (10µg alle 12 Stunden) betrug die DPPIV-Aktivität im Mäuseserum und in einer Suspension aus Milzzellen weniger als 30% im Vergleich zu Mäusen ohne Inhibition. Im zweiten Schritt wurde eine Antigen-induzierte Immunantwort ausgelöst. Die Mäuse wurden hierzu mit BSA (bovine serum albumin) immunisiert und anschließend die IgG-Antikörper gegen BSA zwischen den Mäusen, die mit DPPIV-Inhibitoren behandelt wurden mit den Kontroll-Mäusen verglichen (ohne DPPIV-Inhibitor). Mäuse mit Inhibitor wiesen signifikant niedrigere Anti-BSA IgG auf als die Kontroll-Mäuse. Einschränkend kann hier gesagt werden, dass die IgG-Werte eine weite Streubreite hatten.

Korom et al. (231) führten eine Herz-Transplantation einer F1-Spenderratte in eine Lewis Ratte durch. Die CD26 Expression auf Lymphozyten im peripheren Blut wurde untersucht und zeigte einen Zusammenhang zwischen einem Anstieg im Anteil der CD26-exprimierenden Lymphozyten an Tag 1 und 2 nach der Transplantation und einer akuten Abstoßungsreaktion. Ab Tag 3 war kein signifikanter Unterschied der CD26-Expression mehr messbar. Zusätzlich wurde die DPPIV-Aktivität im Serum der transplantierten Ratten gemessen und ausgewertet. Bei den unbehandelten Ratten (n=8) kam es zu einem Anstieg der DPPIV-Aktivität mit einem Maximum an Tag 6 nach der Transplantation, welcher der akuten Abstoßungsreaktion vorausging. Das mittlere Transplantatüberleben betrug 7 Tage. Ratten (n=10) die mit Propidine (DPPIV-Hemmer) behandelt wurden zeigten eine sinkende DPPIV-Aktivität und ein längeres mittleres Transplantatüberleben von 14 Tagen.

Jungraithmayr und Enz (232) fassten in einem Artikel die aktuellen Erkenntnisse zur Rolle von CD26 bei Abstoßungsreaktionen zusammen.

Auch wenn die o.g. Studien auf eine Assoziation von CD26 und Abstoßungsreaktionen in der Transplantationsmedizin hinweisen, konnte dies in der aktuellen Studie nicht bestätigt werden.

Eine mögliche Erklärung ist die immunsuppressive Therapie, die gerade in den ersten Monaten nach einer Transplantation höher dosiert gegeben wird. Zudem erfolgten die Blutabnahmen im Rahmen der Routineuntersuchungen. Daher waren die Visitenzeiträume groß und Veränderungen der Biomarkerexpression gerade in der prädiktiven Analyse konnten möglicherweise nicht erkannt werden. Die bereits zitierten Studien von Wieland et al. (229), Leicht et al. (173) und Korom et al. (231) unterstützen diese Hypothese: Der Anteil der CD26-exprimierenden T-Zellsubpopulation stieg für nur einzelne Tage an. Das diagnostische Zeitfenster war demnach breit und erschwerte die Diagnostik. Um hier genauere Daten zu bekommen wären z.B. tägliche Blutabnahmen notwendig gewesen.

Die aktuellen Ergebnisse bestätigen und bekräftigen die Vorgängerstudie von Strobel et al. (233). Sie hatten bei 70 Patienten den Anteil CD3<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen bestimmt. Die Studie untersuchte die späte Phase nach Nierentransplantation (=ab 30 Tage nach der Transplantation). Von der ersten Blutprobe in der späten Phase (P4) wurden die Patienten 6 Monate nachbeobachtet. Dann wurde die Anzahl der T-Zellsubpopulationen zwischen Patienten mit und ohne Abstoßungsreaktion verglichen. Hierbei wurden Abstoßungen innerhalb von 2 Monaten nach P4 und innerhalb 6 Monaten nach P4 analysiert. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der Biomarker-Expression.

#### **4.8. Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Anzahl CD28 exprimierender T-Zellsubpopulationen und dem Ereignis Abstoßung?**

CD28 wird kontinuierlich auf der Mehrzahl der T-Zellen exprimiert. Um eine Toleranz zu erzeugen oder Abstoßungsreaktionen zu verhindern wurden verschiedene Strategien erprobt. Hierzu wurde die kostimulatorische Aktivität von CD28 durch Anti-CD80- und Anti-CD86-Antikörper sowie CTLA4-Ig blockiert.



Studien von Tan et al. (234) oder Yamada et al. (235) konnten nachweisen, dass es durch eine Blockade von CD28 durch Anti-CD80- und Anti-CD86-Antikörper bzw. durch die Gabe von CTLA4-Ig zu einer höheren Transplantatüberlebenszeit kam. Yamada et al. (235) untersuchten die mediane Überlebenszeit von Mäusen nach einer Herztransplantation. In dieser Studie zeigte sich, dass wild type Mäuse, die mit CTLA4-Ig behandelt wurden ein längeres Allotransplantatüberleben hatten als Mäuse ohne Behandlung.

In der gleichen Studie zeigte sich aber auch, dass CD28 knock out Mäuse trotz Gabe von CTLA4-Ig schnelle Abstoßungsreaktionen entwickeln können (235). Das zeigt, dass andere Mechanismen eine Abstoßungsreaktion auslösen können. So ist z.B. der Wegfall von CD28 auf Foxp3+Treg als Ursache zu diskutieren, da dadurch die protolerant wirkenden Tregs in ihrer Funktion oder ihrem Überleben gehemmt werden könnten (236).

Weiter zeigten Mäuse ohne CD28 und ohne CTLA4-Ig weniger Abstoßungsreaktionen, da hier das inhibitorische Signal von CTLA-4 an B7 weitergegeben werden konnte (235).

Die Veränderungen der CD28-Expression auf T-Zellen beim Menschen sind Gegenstand der aktuellen Forschung. Dedeoglu et al. (237) beobachteten 222 nierentransplantierte Patienten. 30 (14%) von ihnen entwickelten innerhalb von 3 Monaten nach der Transplantation eine Abstoßungsreaktion, die durch eine Biopsie gesichert wurde. Diese 30 Patienten hatten vor der Transplantation eine niedrigere Anzahl CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>-Zellen ( $p < 0,01$ ) und einen Trend hin zu einer erniedrigten Anzahl CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup> T-Zellen ( $p = 0,08$ ) als die Vergleichsgruppe ohne Abstoßungsreaktion. In der multivariaten Cox-Analyse (Covarianten waren Alter des Spenders, zuvor gemessener PRA und die Nierentransplantation von einem verwandten Spender) zeigte sich ein signifikanter Unterschied sowohl bei der absoluten Anzahl CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen als auch beim prozentualen Anteil der CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen. Schwächen der Studie waren, dass das Alter der Spender in der Gruppe mit Abstoßungsreaktionen höher war ( $p = 0,024$ ) und in dieser Gruppe auch weniger Transplantationen ( $p = 0,018$ ) von genetisch Verwandten vorlagen.

Eine andere Studie von Boix et al. (238) untersuchte die CD28 Expression vor der Transplantation. In einer kleinen Studie wurden 30 lebertransplantierte (LT) und 31 nierentransplantierte (NT) Patienten über ein Jahr nach der Transplantation beobachtet. In diesem Zeitraum hatten 40% der LT und 23% der NT eine akute Abstoßungsreaktion. Die Auswertung ergab, dass der prozentuale Anteil CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen in der Gruppe mit Abstoßungsreaktion nach LT signifikant niedriger war im Vergleich zur Gruppe ohne Abstoßungsreaktion. Bei den NT zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Ergänzend wurde auch die Anzahl der CD28 Moleküle pro Zelle gemessen. Diese war vor der Transplantation mit  $\leq 7669$  ( $p=0,046$ ) bei KT und  $\leq 8359$  ( $p=0,031$ ) bei LT niedriger bei Patienten, die eine Abstoßungsreaktion entwickelten.

Die Ergebnisse von Beaten et al. (239) ermutigten dazu, CD28 als möglichen Biomarker zur Unterscheidung von Abstoßungsreaktionen zu erforschen. Beaten et al verglichen den CD8<sup>+</sup>T-Zellphänotyp von 6 nierentransplantierten Patienten, die mindestens 2 Jahre lang ohne Immunsuppression stabil waren mit 14 Patienten mit chronischer Abstoßungsreaktion, 6 gesunden Probanden und 12 nierentransplantierten Patienten mit stabiler Nierenfunktion. Der Einfluss von Alter und Immunsuppression konnte weitestgehend ausgeschlossen werden. Es zeigte sich, dass Patienten mit chronischer Abstoßungsreaktion eine höhere Anzahl CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen aufwiesen und die toleranten Patienten mehr CD8<sup>+</sup>T<sub>CM</sub> (CD45RA-CCR7-) hatten. Zudem zeigte sich, dass Patienten mit chronischer Abstoßungsreaktion sowohl bei den CD8<sup>+</sup>CD45RA+CCR7- als auch bei den CD8<sup>+</sup>CDRA-CCR7-T-Zellen der Anteil an CD28 exprimierenden Zellen signifikant geringer war im Vergleich zu den toleranten Patienten und den gesunden Probanden. Interessanterweise zeigten die nierentransplantierten Patienten mit stabiler Nierenfunktion ein durchmisches Profil. Ähnliche Ergebnisse zeigte auch Trzonkowski et al. (240). Diese und weitere Studien weisen auf einen Zusammenhang zwischen der CD28 Expression auf T-Zellen und Abstoßungsreaktionen hin. Dieser konnte in der aktuellen Studie nicht nachgewiesen werden. Eine Erklärung ist, dass sich im Rahmen einer Abstoßungsreaktion v.a. die Dichte der CD28 Expression

verändert. Da wir den prozentuellen Anteil der CD28-exprimierenden T-Zellsubpopulationen gemessen haben konnte dieser Effekt eventuell nicht betrachtet werden. Eine weitere Ursache kann darin liegen, dass CD28 nicht der einzige Weg ist eine Abstoßungsreaktion zu fördern oder zu hemmen. Dies konnte man eindrücklich an den CD28 knock-out Mäusen zeigen oder auch bei Patienten, die trotz Gabe von Belatacept schwere Abstoßungsreaktionen entwickelten (236). Eine weiterer Grund kann in der Anzahl der CD28<sup>+</sup> und CD28<sup>null</sup> T-Zellen gesehen werden. Diese kann von Mensch zu Mensch deutliche Unterschiede aufweisen (Alter, CMV-Status, Infektionen). Zudem besteht die Hypothese, dass nierentransplantierte Patienten aufgrund der Zeit der Niereninsuffizienz eine höhere Anzahl CD28<sup>null</sup>T-Zellen haben: Pawlik et al. (241) untersuchten CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup> Zellen bei 20 gesunden Probanden, 20 nierentransplantierten Patienten mit stabiler Nierenfunktion und 20 nierentransplantierten Patienten mit chronischer Abstoßungsreaktion. Hierbei zeigte sich, dass gesunde Probanden signifikant weniger CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup> Zellen haben (Median 1,4%) als Nierentransplantierte mit stabiler Nierenfunktion (Median 3,1%) oder Nierentransplantierte mit chronischer Abstoßungsreaktion (Median 10,65%). Eindrücklich zeigt sich aber auch hier, dass eine differenzierte Betrachtung der T-Zellsubpopulationen unumgänglich ist. Ein weiterer Aspekt liegt in der Immunsuppression. Pearl et al. (216) konnten beispielsweise zeigen, dass Tacrolimus die Ausschüttung von IL-2 und INF- $\gamma$  verringern kann.

Die Frage nach einem Zusammenhang von CD28<sup>null</sup>T-Zellen und Abstoßungsreaktionen ist weiterhin Gegenstand der aktuellen Forschung. Da insbesondere CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen mit dem schwächeren Immunsystem von älteren Menschen und einer damit einhergehenden schwächeren humoralen Immunantwort auf Impfungen assoziiert werden, war die Hypothese, dass weniger CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen einen protektive Effekt auf Abstoßungsreaktionen haben. Trzonkowski et al. (240) stellten die Hypothese auf, dass nach Gabe von Alemtuzumab im Rahmen der homöostatischen Proliferation die zunehmenden CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen mit anderen Immunzellen um den vorhandenen Platz konkurrieren. Je weniger CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen ein Patient habe, desto höher

das Risiko für Abstoßungsreaktionen. Diese Hypothese kann in der aktuellen Studie nicht bekräftigt werden. Möglicherweise weil unsere Patientenzahl zu klein war.

#### **4.9. Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Anzahl CD26 oder CD28 exprimierender T-Zell-Gedächtniszellen und dem Ereignis Abstoßung?**

Bei Abstoßungsreaktionen spielen T-Gedächtniszellen eine besondere Rolle. Battochio et al. und Ibrahim et al. (242; 243) beispielsweise untersuchten Nierenbiopsien. Sie konnten nachweisen, dass im Nierengewebe von Patienten mit Abstoßungsreaktion ein deutlich erhöhter Anteil CD8<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>-T-Zellen vorhanden war und ein erhöhtes Verhältnis von CD45RO<sup>+</sup>/RA<sup>+</sup> bei den Zellen vorlag, die die Transplantatnieren infiltrierten.

Mathews et al. (244) konnten den Einfluss von T-Gedächtniszellen bei Affen nach einer Nierentransplantation nachweisen. Es zeigte sich, dass Affen, die resistent auf Belatacept waren vor der Transplantation eine höhere Anzahl CD8<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>-T-Zellen aufwiesen als Affen die keine Abstoßung hatten (p=0,0402). In der weiteren Differenzierung zeigte sich, dass ein Anteil von über 3% der CD28<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>-T-Zellen (=CD28<sup>+</sup>T<sub>EMRA</sub>) vor der Transplantation die beste Vorhersage treffen konnte, ob eine Abstoßung unter Belatacept erfolgt. Der positiv prädiktive Wert lag bei 93,3%, der negativ prädiktive Wert lag bei 90,1% (87,5% Sensitivität, 95,2% Spezifität). Interessant an der Studie war auch, dass der Anteil CD28-exprimierender CD45RA<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>-T-Zellen (CD8<sup>+</sup>T<sub>EMRA</sub>), gemessen im peripheren Blut, nach der Transplantation sank, bei den Affen die unter Belatacept eine Abstoßungsreaktion entwickelten. Bei diesen Affen zeigte sich zusätzlich, dass die CD28-Expression der CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T<sub>EMRA</sub> nach der Transplantation sank und die Nierenbiopsie überwiegend CD28<sup>null</sup>-T-Zellen zeigte.

In der Literatur sind Abstoßungsreaktionen u.a. mit einem erhöhten Anteil an CD28<sup>null</sup> T-Gedächtniszellen assoziiert worden (241; 239; 245) bzw. mit einem erniedrigten Anteil CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>-T-Zellen vor der Transplantation (238).

Es gibt aber auch Studien, die auf einen protektiven Effekt von CD8<sup>+</sup>-T-Gedächtniszellen bei Transplantationen hinweisen (246).

Obwohl Gedächtniszellen ein hohes immunogenes Potential haben können, zeigte sich in der aktuellen Studie kein Zusammenhang zwischen den CD26<sup>+</sup> und CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen und Abstoßungsreaktionen. Eine mögliche Ursache für dieses Ergebnis ist die Immunsuppression. Eine weitere Ursache stellen die vielen Subpopulationen der Gedächtniszellen dar. Diese zeigen ein weites Spektrum in ihrer Funktion und Reaktion.

#### **4.10. Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Anzahl CD26 exprimierender T-Zellsubpopulationen und dem Ereignis Infektionen?**

##### **4.10.1. Alle Infektionen**

In zahlreichen Studien konnten Veränderungen von CD26 in seinen unterschiedlichen Funktionen und Formen bei Autoimmunerkrankungen, Infektionen und Entzündungsreaktionen beschrieben werden (247; 248).

Cai et al. (249) z.B. führten Untersuchungen an 10 Zelllinien von Fledermäusen durch. CD26 gilt als funktioneller Rezeptor für den Eintritt des MERS-CoV in die Zelle. Antikörper gegen CD26 verhinderten die Infektion der Zelllinien mit dem Virus dosisabhängig. Auf resistenten Zelllinien konnte kein CD26 nachgewiesen werden, aber alle infizierten Zelllinien exprimierten CD26. Persistierende MERS-CoV Infektion führte zur Runterregulation von CD26 auf der Oberfläche der Zellen. Ob es auch zu Veränderungen z.B. im Rahmen der aktuellen SARS-CoV2-Pandemie gibt, ist noch zu erforschen.

In der aktuellen Studie konnte kein Einfluss zwischen der Expression des Biomarkers und Infektionen gesehen werden. Somit decken sich meine Ergebnisse mit denen von Strobel et al. (233) und Essa et al. (250). Essa et al. untersuchten 79 nierentransplantierte Patienten. 35 von ihnen hatten eine CMV-Infektion. Verglichen wurden mittels FACS T-Zellsubpopulationen mit und ohne Infektion. Patienten mit Infektion zeigten zum Zeitpunkt der Infektion einen niedrigeren Anteil CD3<sup>+</sup>- und CD4<sup>+</sup>T-Zellen. Für CD26<sup>+</sup>T-Zellen war kein signifikanter Unterschied gemessen worden.

##### **4.10.2. Virale Infektionen**

Um ein genaueres Bild zu bekommen wurden virale Infektionen separat betrachtet.

Wie bereits erwähnt, zeigten Ibegbu et al. (183) in ihrer Arbeit, dass verschiedene Infektionen zu einer unterschiedlichen CD26 Expression führen. Sie haben die CD26-Expression auf virusspezifischen CD8<sup>+</sup>T-Zellen bei verschiedenen Virusinfektionen analysiert. Die Impfung gegen Influenza galt als eine abgeschlossene Infektion im Gegensatz zu CMV, EBV und HIV, die eine chronische Infektion mit persistierendem Antigen repräsentierten. Eingeschlossen wurden in die Studie 23 gesunde Freiwillige die CMV und/oder EBV seropositiv waren. 10 von ihnen hatten eine Influenza-Impfung. Zudem wurden vier HIV-positive Patienten eingeschlossen bei denen kein Infekt bestand und die Viruslast unter Therapie stabil war. Gemessen wurde der Anteil CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen. Hierbei wurde zwischen CD26<sup>low/intermediate/high</sup> unterschieden. Der Median-Wert der CD8<sup>+</sup>T-Zellen die CD26<sup>high</sup> oder <sup>intermediate</sup> exprimierten lag bei Influenza bei 95,5% (range 80–100%), bei CMV bei 10,5% (range 18–367%), bei EBV (3 Epitope) zwischen 12,1% and 19,5% (RAK, FLR and GLC) (range 34–23%) and bei HIV 13,2% (range 2–17%).

Nesburn et al. (251) hat CD8<sup>+</sup>T-Zellen von HSV-1 positiven Probanden untersucht: HLA-A\*02:01 positiven Probanden, HSV-1 seropositiven, asymptomatischen Probanden und symptomatischen Probanden (rezidivierende Herpesinfektion der Augen). Asymptomatische HSV-1 positive Probanden und 10 HLA-A\*02:01 positive Probanden hatten mehr Effektor-Gedächtniszellen (CD45RA<sup>low</sup>CCR7<sup>low</sup>) CD26<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T Zellen als symptomatische Probanden.

Die Hypothese, dass man durch die Bestimmung der CD26 Expression auf CD4<sup>+</sup> oder CD8<sup>+</sup>T-Zellen Patienten mit und ohne Infektionen unterscheiden kann, konnte in der aktuellen Studie nicht bestätigt werden.

Ein Grund dafür könnte sein, dass wir die prozentuale Expression der Biomarker gemessen und nicht zusätzlich die Dichte der CD26 Expression pro Zelle, die sCD26 oder die DPPIV-Aktivität betrachtet haben. Ein weiterer Grund wäre, dass im Rahmen von Infektionen nur bestimmte T-Zellsubpopulationen ihre CD26 Expression signifikant verändern. Bengsch et al. (114) stimulierten T-Zellen aus dem peripheren Blut von gesunden Probanden. Die meisten (Median

91%) der T<sub>H</sub>17 Zellen, die nur ca. 2% der peripheren CD4<sup>+</sup>T-Zellen ausmachen, zeigten eine hohe CD26 Expression. Da T<sub>H</sub>17 Zellen mit Entzündungsreaktionen und Autoimmunreaktionen assoziiert sind, könnte diese T-Zellsubpopulation möglicherweise einen sensitiveren Marker repräsentieren. Bensch et al. (114) untersuchten auch die CD26 Expression auf weiteren T-Zellsubpopulationen und konnten eine Assoziation aufzeigen zwischen der Menge an CD26 <sup>(low/intermediate/high)</sup> auf einer T-Zelle und damit einhergehender unterschiedlicher Zytokinsekretion.

#### **4.11. Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Anzahl CD28 exprimierender T-Zellsubpopulationen und dem Ereignis Infektionen?**

Veränderungen der CD28 Expression bei T-Zellen sind insbesondere bei viralen Infektionen sowie bei Autoimmunkrankheiten (252–255) beschrieben worden: bei HIV (256–258), HCMV (259), EBV (147; 260), CMV (261), Hepatitis B (262; 263), dem human Parvovirus B19 (264). Estensen et al. (265) beispielsweise beschreiben in ihrem Review eine Expansion von CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup> T-Zellen bei viralen Infektionen.

CD8<sup>+</sup>T-Zellen sind ein wichtiger Baustein der antiviralen Abwehr. Mit dem Alter sinkt die CD28-Expression bei den CD8<sup>+</sup>T-Zellen schneller als bei den CD4<sup>+</sup>T-Zellen (114). Da Infektionen zusätzlich die Generation von CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen stimuliert war die Hypothese, dass es signifikante Unterschiede in der CD28 Expression der T-Zellsubpopulationen bei Infektionen geben muss.

Es können mehrere Ursache für den nicht signifikanten Einfluss der CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen auf das Ereignis Infektion oder virale Infektionen diskutiert werden:

Der prädiktive Zeitpunkt ist zu früh um die Veränderungen in der CD28-Expression zu detektieren. Auch der diagnostische Zeitpunkt ist als zu früh zu diskutieren, da es laut Weng et al. (147) bei Infektionen zunächst erst zu einer Runterregulation der CD28-Expression auf T-Zellen kommt, welche in der aktuellen Studie nicht gemessen wurde. Erst im Verlauf kommt es zur Entstehung von CD28<sup>null</sup>T-Zellen. Die Studie von Isa et al. (264) beispielsweise beobachtete den Verlauf der CD28 Expression über einen Zeitraum von 30

Monaten bei akuter B19-Infektion bei Patienten. Es zeigte sich über die Monate eine Veränderung der anteilmäßigen CD28-Expression von CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen zu CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen. Interessant wäre daher der Verlauf des Biomarkers z.B. 30 Tage nach der ersten Blutabnahme. Auch die Immunsuppression muss beachtet werden. Eine Hemmung der T-Zellaktivierung führt hypothetisch zu einer geringeren Umwandlung von CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen.

#### **4.12. Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Anzahl CD28 exprimierender CD4<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen und dem Ereignis virale Infektionen?**

In der diagnostischen Auswertung zeigte sich ein Einfluss von CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen für das Ereignis virale Infektionen: Patienten mit einem Median von 39,47 % CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> T-Gedächtniszellen hatten ein um 0,31-fach geringeres Risiko für eine virale Infektion als Patienten mit einem Median von 23,03% ( $p > 0,001$ ).

Das Ergebnis ist zunächst überraschend. Erwartet war, dass ein erhöhtes Risiko für Infektionen in der diagnostischen Testung mit einer geringeren CD28 Expression einhergeht. Die Begründung ist, dass naive Zellen durch Zellteilung z.B. bei einem Infekt oder unter dem Einfluss von TNF- $\alpha$  bei Entzündungsreaktionen ihre CD28 Expression reduzieren und bei repetitiver Zellaktivierung verlieren. Das zeigt sich auch bei chronischen Infektionen wie HIV oder HCV, die zu einer Erhöhung der CD28<sup>null</sup>T-Zellen führen.

Beispielhaft zeigten das Wang et al. (266). Sie haben mit FACS u.a. die CD28 Expression auf CD4<sup>+</sup>T-Zellen untersucht und zwischen gesunden Probanden (n=30), chronisch Hepatitis-B-infizierten Patienten vor einer antiviralen Therapie (n=30) und chronisch Hepatitis-B-infizierten Patienten nach einer antiviralen Therapie (n=32) verglichen. Es zeigte sich, dass beide Gruppen Hepatitis B-infizierter Patienten im Vergleich zu den gesunden Probanden weniger CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup> T-Zellen hatten und auch weniger CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Zellen aufwiesen.

Besonders beeindruckend ist der CD28 Verlust auf CD4<sup>+</sup> T-Zellen nach einer vorangegangenen CMV-Infektion (175). Nach einer CMV-Infektion kann sich der Anteil der CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen verdoppeln und CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen



auftreten. Da diese Veränderungen persistieren und bis zu 80% der Erwachsenen CMV seropositiv sind muss diese Tatsache bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden.

Eine weitere Überlegung ist, dass Patienten mit mehr CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen weniger CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Gedächtniszellen haben. CD28<sup>null</sup>T-Zellen können mit einer reduzierten Immunantwort, andererseits aber im Falle einer Aktivierung mit einem zytolytischen Potential assoziiert werden, insgesamt könnte das einen protektiven Faktor darstellen (267). In der Literatur sind CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen jedoch mit Autoimmunerkrankungen und Entzündungsreaktionen assoziiert (147), was ihr zytotoxisches Potential zeigt.

Eine interessante Studie von Litjens et al. (268) berücksichtigte gleich mehrere Einflussfaktoren auf die CD28-Expression. Sie haben die CD28 Expression bei 250 Patienten mit ESRD (GFR<15ml/min mit oder ohne Ersatztherapie) und mit oder ohne CMV-Infektion gemessen und dabei auch das Alter berücksichtigt. In beiden gemessenen Altersgruppen (20-40-jährige und >60-jährige Patienten) hatten CMV-seropositive Patienten einen signifikant höheren Anteil CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup> und weniger ausgeprägt aber signifikant auch der CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Gedächtniszellen (CCR7<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>, CCR7<sup>-</sup>CD45RO<sup>+</sup>, CCR7<sup>-</sup>CD45RO<sup>-</sup>). Da in der aktuellen Studie der CMV-Status nicht als Variable in der Cox Regressionsanalyse einging, wurde dieser Effekt des CMV-Status nicht berücksichtigt.

In der aktuellen Studie wurde aber das Alter als Variable in der Cox Regressionanalyse berücksichtigt. Es zeigte sich, dass das Alter ebenfalls einen signifikanten Einfluss auf das Ereignis hatte. Auch bei der weiteren Berechnung erhärtet sich der Verdacht, dass das Ereignis virale Infektionen am besten durch die Variable "Alter bei Studieneintritt" vorhergesagt werden kann: je älter der Patient bei Nierentransplantation, desto wahrscheinlicher ist eine virale Infektion. Da CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup> T-Zellen nach heutigem Kenntnisstand mit der im Alter nachlassenden Immunantwort auf Pathogene assoziiert wird, wäre hier ein Zusammenhang erwartet worden.

Zusätzlich ist noch zu erforschen, wie die einzelnen Gedächtniszellsubpopulationen bei Infektionen reagieren. Eine Arbeit von Litjens et al. konnte beispielweise belegen, dass Patienten mit ESRD nach einer Hepatitis B-Impfung nur 6,3% der HBsAg-spezifischen TEM (CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup>) gebildet haben im Vergleich zu gesunden Probanden. Auch dieser Effekt der weiteren Subpopulationen wurde in der aktuellen Studie nicht untersucht.

Bei Gedächtniszellen wäre zudem interessant, wie sich die Biomarker-Expression auf den T<sub>EM</sub> und den T<sub>CM</sub> bei Infektionen unterscheiden. Mahnke et al. (39) zeigten die Differenzierung von humanen T-Zellen beim Menschen auf und verdeutlichen, warum eine Differenzierung mit mehreren Oberflächenmarkern sinnvoll ist. Zudem muss bedacht werden, dass T<sub>CM</sub> größtenteils in den sekundär lymphatischen Organen vorhanden sind und mehr CD4<sup>+</sup>T-Zellen enthalten im Gegensatz zu den T<sub>EM</sub>, die besser im peripheren Blut messbar sind, ins periphere Gewebe wandern können und aus mehr CD8<sup>+</sup>T-Zellen zusammengesetzt sind (267).

#### **4.13. Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Anzahl CD26 und CD28 exprimierender T-Zellsubpopulationen und dem kombinierten Endpunkt Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust?**

Eine Transplantatfunktionsverschlechterung bzw. ein Transplantatverlust können durch eine Vielzahl von Ursachen ausgelöst werden. Dabei kann man zwischen immunologischen (z.B. Abstoßung, Infektion) und nicht-immunologischen Ursachen (z.B. Volumenmangel, Nephrotoxizität durch Medikamente, Durchblutungsstörungen) unterscheiden.

Eine Schädigung der Transplantatniere kann z.B. durch inter-individuelle Schwankungen des Tacolimus-Spiegels ausgelöst werden (269).

Niedermeier et al. (270) zeigten in einer Studie an Mäusen, dass die Differenzierung von Monozyten zu Fibrinozyten von CD4<sup>+</sup>T-Zellen abhängt und dieser Prozess wiederum durch Immunsuppressiva beeinflusst werden kann. Auch wenn in dieser Studie keine weiteren Biomarker untersucht wurden, kann die Hypothese aufgestellt werden, dass CD4<sup>+</sup>CD26<sup>+</sup>T-Zellen zu mehr

Fibrosierung führt als CD4<sup>+</sup>CD26<sup>null</sup>T-Zellen. Die Fibrosierung wiederum führt zu einer Verschlechterung der Nierenfunktion.

In der Literatur gibt es Hinweise darauf, dass CD26 einen Einfluss haben kann auf eine Transplantatdysfunktion, wie beispielsweise in der bereits zitierten Studie von Zhai et al. (222). Sie untersuchten die Transplantatdysfunktion nach einer Lungentransplantation an Ratten. Hierzu wurden die Lungentransplantate einer 18-stündigen kalten Ischämiezeit ausgesetzt. In der Kontrollgruppe wurden die Lungentransplantate vor der Transplantation mit Perfadex gespült, in den Interventionsgruppen mit Perfadex und den DPPIV-Inhibitor AB192. In diesem Versuch zeigte sich, dass die Zugabe des DPPIV-Inhibitors das Auftreten und die Schwere einer Lungentransplantatdysfunktion vermindern kann.

CD26 wird in großer Menge auch in den Nieren, insbesondere im proximalen Tubulus exprimiert. Vor diesem Hintergrund werden DPPIV-Inhibitoren aktuell im Hinblick auf ihren nephoprotektiven Effekt untersucht. Verschiedene Studien (271–273) fassten die aktuellen Erkenntnisse über einen möglichen nephroprotektiven Effekt von DPPIV-Inhibitoren bei Diabetes mellitus Typ2, Nierenschädigungen und Bluthochdruck zusammen.

Im Rahmen einer Nierenfunktionsverschlechterung kommt es zu einer Störung der Entgiftungsfunktion und der Harnstoff-Wert im Serum steigt. Die Hypothese, dass die hiermit eintretenden Veränderungen im Körpermilieu zu Veränderungen in der CD26 oder CD28 Expression geführt haben könnten, wurde in der aktuellen Studie widerlegt.

Studer et al. (274) untersuchten die CD28 Expression auf CD4<sup>+</sup>T-Zellen bei lungentransplantierten Patienten. Sie konnten zeigen, dass Patienten, bei denen <90% der CD4<sup>+</sup>T-Zellen CD28 exprimierten (n=7) signifikant niedrigere FEV1-Werte hatten als Patienten, bei denen 90% oder mehr der CD4<sup>+</sup>T-Zellen CD28 exprimierten (n=27). Einschränkend ist hier zu erwähnen, dass die Fallzahl sehr klein war.

Eine Nierenfunktionsverschlechterung kann auch Ausdruck anderer Erkrankungen sein. Vor diesem Hintergrund sind auch die Ergebnisse von

Betjes et al. (175) zu erwähnen. Sie postulieren  $CD4^+CD28^{null}$ -T-Zellen bei CMV-seropositiven ESRD-Patienten als neuen, unabhängigen Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen.

Nicht zuletzt zeigte die Studie von Leicht et al. (173) mit 87 Nierentransplantierten Unterschiede in der CD26 Expression. Am Tag 14 nach der Transplantation war die Anzahl der  $CD4^+CD26^+$ -T-Zellen signifikant höher bei Patienten mit einer Funktionsverschlechterung als ohne eine Funktionsverschlechterung.

Eine Hypothese, warum in der aktuellen Studie kein signifikanter Unterschied in der CD26 und CD28 Expression zwischen den Vergleichsgruppen gemessen werden konnte ist, dass die Patienten durch die Transplantation an sich und durch das proinflammatorische Milieu vor der Transplantation bereits erhöhte CD26 Expression bzw. erniedrigte CD28 Expression (176) hatten als gesunde Probanden. Postoperativ wurden die immunologischen Aktivitäten der T-Zellen durch die Immunsuppressiva unterdrückt. Weitere Risikofaktoren haben sich möglicherweise durch die Transplantation gebessert und/oder wurden nach der Transplantation besser kontrolliert und behandelt (Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie,...). Auch der Kreatininwert war nach der Transplantation mutmaßlich kontinuierlich besser als vor der Transplantation. Eine andere Erklärung ist aber auch, dass die Marker der T-Zellsubpopulationen kleinere Subpopulationen nicht berücksichtigt haben. Yap et al. (275) beispielsweise haben bei nierentransplantierten Patienten in einer stabilen Phase eine Assoziation von  $T_{EMRA} CD8^+$ -T-Zellen und einer Nierentransplantatdysfunktion gezeigt.

## **5. Fazit und Limitationen der Studie**

Die aktuelle Studie konnte nicht nachweisen, dass man durch den Anteil der hier ausgewerteten CD26 oder CD28 exprimierenden T-Zellsubpopulationen Ereignisse wie Abstoßungsreaktionen, Infektionen oder einen kombinierten Endpunkt wie Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust erkennen oder vorhersagen kann.

## 5.1. CD26

CD26, das auch als "moonlight-protein" (79) bezeichnet wird, hat eine Vielzahl an Funktionen. Die zitierten Studien geben nur einen kleinen Einblick in das komplexe Zusammenspiel von CD26 im Immunsystem. In der aktuellen Studie wurde nur der Anteil CD26<sup>+</sup>- und CD28<sup>+</sup>T-Zellsubpopulationen ausgewertet. Die DPPIV-Aktivität, sCD26 und auch die Höhe der CD26-Expression pro T-Zelle wurden nicht ergänzend erfasst. Auch wurde nur die Biomarker-Expression auf T-Zellen im peripheren Blut und nicht auf anderen Zellen, wie beispielsweise den T-Zellen in Biopsaten oder anderen Geweben, gemessen.

Weitere Studien zeigen, dass die Höhe bzw. Dichte der CD26 Expression (CD26<sup>low/intermediate/high</sup>) auf den T-Zellsubpopulationen zu unterschiedlichen Funktionen der entsprechenden T-Zellsubpopulation führen, die noch erforscht werden. Beispiele hierfür finden sich in der Onkologie (276; 277).

Zu berücksichtigen ist auch, dass es Unterschiede zwischen den Spezies geben kann. So wurde gezeigt, dass CD26 bei der Maus kein ADA binden kann (278) und somit die Ergebnisse möglicherweise nicht direkt auf den Menschen übertragbar sind.

## 5.2. CD28

Auch bei der Auswertung der CD28<sup>+</sup>T-Zellen wäre die Höhe der CD28-Expression pro Zelle eine gute Ergänzung gewesen. Gerade in der prädiktiven Diagnostik ist die Hypothese, dass es zunächst zu einer Herabregulation der CD28-Expression und erst nach rezidivierenden Aktivierungen einer T-Zelle zur Entstehung von CD28<sup>null</sup>T-Zellen kommt (147). Die Expression von CD28 verändert die Funktion einer T-Zellen (150). Doch die Messung von CD28 ist immer eine Momentaufnahme. Viele Faktoren können die CD28 Expression beeinflussen. Z.B. die Zytokine bei einer Immunreaktion wie TNF $\alpha$ . Andere Zytokine wie IL-2-, IL-12 und IL-15 können bei CD28<sup>null</sup>T-Zellen zu einer Reexpression von CD28 führen und damit wiederum die Funktion der T-Zellen beeinflussen (150; 279). Topp et al. (280) konnten in diesem Zusammenhang zeigen, dass CD8<sup>+</sup>T-Gedächtniszellen durch die Wiederherstellung ihrer CD28 Expression wieder eine Antigen-induzierte IL-2 Produktion auslösen konnten.

Weitere Funktionen von CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen sind noch Gegenstand aktueller Forschung. Studien wie die von Chen et al. (281) zeigen neue Funktionen, wie z.B. die der regulatorischen CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zelle, auf.

Auch Studien wie die von Vallejo et al. (282) sind in diesem Zusammenhang interessant. Sie konnten aufzeigen, dass CD4<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup>T-Zellen durch Störungen der Apoptose länger leben und somit die Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen beeinflussen können.

Weiter berücksichtigt werden muss, dass die aktuelle Studie Gedächtniszellen nur durch die Expression von CD45RO<sup>+</sup> definiert hat. Aber auch für die Gedächtniszellen gilt, dass es viele Subpopulationen gibt, die sich in ihrer Funktion und auch in der Expression ihrer Oberflächenmarker unterscheiden. So wurden in der aktuellen Studie die T<sub>EMRA</sub> Zellen nicht berücksichtigt. T<sub>EMRA</sub> Zellen sind T<sub>EM</sub>-Zellen, die wieder RA exprimieren (283).

Eine bessere, detailliertere Definition von naiven und Gedächtniszellen ist notwendig, um mehr Erkenntnisse zu gewinnen. Erschwerend kommt hier hinzu, dass die Definitionen für die unterschiedlichen Gedächtniszellen auch in der Literatur nicht einheitlich sind. Yap et al (284) zeigten, welchen Einfluss die Definition einer T-Zellsubpopulation auf das Ergebnis einer Studie an nierentransplantierten Patienten hatte.

Erneut muss auch bei Studien zu den CD28<sup>null</sup>T-Zellen berücksichtigt werden, dass es Unterschiede zwischen Primaten und Nichtprimaten geben kann. Darauf weist eine Studie von Ortiz-Suarez et al (285) hin. Sie zeigten, dass der beim Menschen gefundene Anstieg von CD28<sup>null</sup>T-Zellen nicht automatisch auch bei Mäusen so nachzuweisen ist.

Das Zusammenspiel der verschiedenen Oberflächenmarker und T-Zellsubpopulationen verdeutlicht die Komplexität des Immunsystems. Die aktuelle Studie ist auch aufgrund der geringen Fallzahl nur eingeschränkt aussagefähig und weitere Forschungen sind notwendig, um das komplexe Zusammenspiel der Biomarker im Immunsystem und ihre Auswirkungen in der Transplantationsmedizin zu erforschen.

## **6. Zusammenfassung**

Unter der Hypothese, dass CD26- und CD28-exprimierende T-Zellsubpopulationen als Marker der Immunzellaktivierung dienen können, wurden in der hier vorgestellten monozentrischen, prospektiven Kohortenstudie, über einen Beobachtungszeitraum von 12 Monaten ( $\pm 1$  Monat), die CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Zellen und die entsprechenden Gedächtniszellen mittels Durchflusszytometrie im peripheren Blut von Nierentransplantierten untersucht. Es wurde zunächst der Verlauf der T-Zellsubpopulationen verfolgt, wobei bis auf wenige Ausnahmen keine signifikanten Effekte mit dem Abstand zur Transplantation beobachtet werden konnten. Auch gab es keine relevanten Korrelationen zwischen der Steroiddosis bzw. der Konzentration von MPA sowie Tacrolimus im Blut und den T-Zellsubpopulationen.

Die Aufteilung der Studienteilnehmer in solche mit einem erhöhten immunologischen Risiko und solche ohne ein erhöhtes immunologisches Risiko vor bzw. nach der Transplantation zeigte signifikante Effekte auf die Verteilung von CD26- und CD28-exprimierenden T-Zellen insbesondere bei der ATG-Induktion, den dnDSA, den PRA und den präformierten Antikörpern.

Für die Diagnostik klinischer Ereignisse wie Abstoßungen, Infektionen oder den kombinierten Endpunkt Funktionsverschlechterung und Transplantatverlust zeigten sich die CD26 und CD28 positiven T-Zellsubpopulationen weder in der diagnostischen noch in der prädiktiven Auswertung als geeignet.

Damit konnten die Untersuchungen nicht bestätigen, dass die Messung von CD26 oder CD28 exprimierenden T-Zellsubpopulationen hilfreich ist, um den Grad der Immunaktivierung bzw. den Grad der Immunsuppression im ersten Jahr nach einer Nierentransplantation abzuschätzen.

## **7. Ausblick**

Durch die additive Messung dieser Biomarker zum traditionellen therapeutischen Drug Monitoring ist eine Individualisierung der immunsuppressiven Therapie nicht möglich. Zusätzliche Messungen funktioneller Marker (z.B. im ELISPOT), die Dichte der Biomarker sowie eine genauere Subtypenanalyse könnten unsere Kenntnisse über die

Funktionsweise des Immunsystems erweitern. Die Messung einzelner Biomarker erscheint als zu simpler Ansatz, um die Komplexität des Immunsystems messen zu können. Eine bessere Kenntnis der einzelnen Player des Immunsystems und ihres Zusammenspiels erscheint notwendig, um eine individualisierte Immunsuppression zu fördern und Ereignisse bei Nierentransplantationen frühzeitig erkennen zu können.



## 8. Literaturverzeichnis

- 1 [statistics.eurotransplant.org/index.php?search\\_type=waiting+list&search\\_organ=kidney&search\\_region=by+country&search\\_period=&search\\_characteristic=&search\\_text=&search\\_collection= Statistiken Eurotransplant](https://statistics.eurotransplant.org/index.php?search_type=waiting+list&search_organ=kidney&search_region=by+country&search_period=&search_characteristic=&search_text=&search_collection=Statistiken+Eurotransplant) [Zugriff 11.10.2020]
- 2 [www.organspende-info.de/lebendorganspende/nierenlebendspende.html](http://www.organspende-info.de/lebendorganspende/nierenlebendspende.html) *Die Nierenlebendspende ist die am häufigsten durchgeführte Lebendorganspende* [Zugriff 11.10.2020]
- 3 MUNTEAN, A.; LUCAN, M. 2013 *Immunosuppression in kidney transplantation*. Clujul Medical. 177–180  
URL: [https://www.researchgate.net/publication/285733994\\_Immunosuppression\\_in\\_kidney\\_transplantation](https://www.researchgate.net/publication/285733994_Immunosuppression_in_kidney_transplantation)  
URN: PMCID: PMC4462507  
URN: PubMed ID: 26527942
- 4 HALLORAN, P. 2004 *Immunosuppressive Drugs for Kidney Transplantation*. New England Journal of Medicine. 2715–2729  
URL: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra033540>  
URN: DOI: 10.1056/NEJMra033540
- 5 ZHANG, R. 2018 *Donor-Specific Antibodies in Kidney Transplant Recipients*. Clinical Journal of the American Society of Nephrology. 182  
URL: <https://cjasn.asnjournals.org/content/13/1/182>  
URN: DOI: 10.2215/CJN.00700117
- 6 BODMER, W. 1987 *The HLA system: structure and function*. Journal of clinical pathology. 948–958  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3312304/>  
URN: DOI: 10.1136/jcp.40.9.948  
URN: PMCID: PMC1141164  
URN: PubMed ID: 3312304
- 7 ERLICH, H.; OPELZ, G.; HANSEN, J. 2001 *HLA DNA Typing and Transplantation*. Immunity. 347–356  
URL: [https://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613\(01\)00115-7](https://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613(01)00115-7)  
URN: DOI: 10.1016/S1074-7613(01)00115-7
- 8 TAKEMOTO, S.; TERASAKI, P.; CECKA, J.; CHO, Y.; GJERTSON, D. 1992 *Survival of nationally shared, HLA-matched kidney transplants from cadaveric donors. The UNOS Scientific Renal Transplant Registry*. The New England journal of medicine. 834–839  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1508242/>  
URN: DOI: 10.1056/NEJM199209173271202  
URN: PubMed ID: 1508242
- 9 [www.enzyklopaedie-dermatologie.de/allergologie/histokompatibilitatsantigene-2464](http://www.enzyklopaedie-dermatologie.de/allergologie/histokompatibilitatsantigene-2464) *Altmeyers Enzyklopädie* [Zugriff 25.12.2019]
- 10 BURLINGHAM, W.; GRAILER, A.; HEISEY, D.; CLAAS, F.; NORMAN, D.; MOHANAKUMAR, T.; BRENNAN, D.; FIJTER, H. de; VAN GELDER, T.; PIRSCH, J.; SOLLINGER, H.; BEAN, M. 1998 *The Effect of Tolerance to Noninherited Maternal HLA Antigens on the Survival of Renal Transplants from Sibling Donors*. New England Journal of Medicine. 1657–1664  
URL: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199812033392302>  
URN: DOI: 10.1056/NEJM199812033392302
- 11 FILIPPONE, E.; FARBER, J. 2016 *The Humoral Theory of Transplantation: Epitope Analysis and the Pathogenicity of HLA Antibodies*. Journal of immunology research. 5197396  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28070526/>  
URN: DOI: 10.1155/2016/5197396

URN: PMCID: PMC5192322  
URN: PubMed ID: 28070526

12 CHOO, S. 2007 *The HLA System: Genetics, Immunology, Clinical Testing, and Clinical Implications*. Yonsei medical journal. 11–23

URL:

[https://www.researchgate.net/publication/6480734\\_The\\_HLA\\_System\\_Genetics\\_Immunology\\_Clinical\\_Testing\\_and\\_Clinical\\_Implications](https://www.researchgate.net/publication/6480734_The_HLA_System_Genetics_Immunology_Clinical_Testing_and_Clinical_Implications)

URN: DOI: 10.3349/ymj.2007.48.1.11

13 TERASAKI, P. 2003 *Humoral theory of transplantation*. American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 665–673

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12780557/>

URN: DOI: 10.1034/j.1600-6143.2003.00135.x

URN: PubMed ID: 12780557

14 VAN GELDER, T.; SILVA, H.; FIJTER, J. de; BUDDE, K.; KUYPERS, D.; ARNS, W.; SOULILLOU, J.; KANELIS, J.; ZELVYS, A.; EKBERG, H.; HOLZER, H.; ROSTAING, L.; MAMELOK, R. 2010 *Renal Transplant Patients at High Risk of Acute Rejection Benefit From Adequate Exposure to Mycophenolic Acid*. Transplantation. 595–599

URL:

[https://www.researchgate.net/publication/41399993\\_Renal\\_Transplant\\_Patients\\_at\\_High\\_Risk\\_of\\_Acute\\_Rejection\\_Benefit\\_From\\_Adequate\\_Exposure\\_to\\_Mycophenolic\\_Acid](https://www.researchgate.net/publication/41399993_Renal_Transplant_Patients_at_High_Risk_of_Acute_Rejection_Benefit_From_Adequate_Exposure_to_Mycophenolic_Acid)

URN: DOI: 10.1097/TP.0b013e3181ca7d84

15 BRENNAN, D. *HLA matching and graft survival in kidney transplantation*

URL: <https://pdfs.semanticscholar.org/81cf/e72f69f606036e50f8e905361b62b40452e6.pdf>

16 SOUTH, A.; GRIMM, P. 2016 *Transplant immuno-diagnostics: crossmatch and antigen detection*. Pediatric nephrology (Berlin, Germany). 897–905

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5650740/>

URN: DOI: 10.1007/s00467-015-3145-z

URN: PMCID: PMC5650740

URN: PubMed ID: 26139577

17 MULLEY, W.; KANELIS, J. 2011 *Understanding crossmatch testing in organ transplantation: A case-based guide for the general nephrologist*. Nephrology (Carlton, Vic.). 125–133

URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1440-1797.2010.01414.x>

URN: DOI: 10.1111/j.1440-1797.2010.01414.x

URN: PubMed ID: 21272123

18 ZYLKA-MENHORN, V. 2006 *Transplantationsmedizin: Positive Kreuzprobe ist keine Kontraindikation mehr*. Dtsch Arztebl International. A-3312

URL: <https://www.aerzteblatt.de/archiv/53717/Transplantationsmedizin-Positive-Kreuzprobe-ist-keine-Kontraindikation-mehr>

19 CHAN, Y.; WONG, M.; TANG, L.; GUO, M.; YANG, W.; IP, P.; LI, P.; LEUNG, C.; CHAU, K.; LAM, J.; YEUNG, N.; KWOK, J. 2017 *A simplified method of calculating cPRA for kidney allocation application in Hong Kong: a retrospective study*. Transplant International. 1234–1242

URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/tri.13015>

URN: DOI: 10.1111/tri.13015

20 [optn.transplant.hrsa.gov/resources/allocation-calculators/about-cpra/](https://optn.transplant.hrsa.gov/resources/allocation-calculators/about-cpra/) About CPRA [Zugriff 13.12.2019]

21 PLATT, J.; CASCALHO, M. 2011 *Donor specific antibodies after transplantation*. Pediatric transplantation. 686–690

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22004543/>

URN: DOI: 10.1111/j.1399-3046.2010.01436.x

URN: PMCID: PMC3196851  
URN: PubMed ID: 22004543

22 LIONAKI, S.; PANAGIOTELLIS, K.; INIOTAKI, A.; BOLETIS, J. 2013 *Incidence and clinical significance of de novo donor specific antibodies after kidney transplantation*. *Clinical & developmental immunology*. 849835  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3856119/>  
URN: DOI: 10.1155/2013/849835  
URN: PMCID: PMC3856119  
URN: PubMed ID: 24348683

23 WILLICOMBE, M.; BROOKES, P.; SERGEANT, R.; SANTOS-NUNEZ, E.; STEGGAR, C.; GALLIFORD, J.; MCLEAN, A.; COOK, T.; CAIRNS, T.; ROUFOSSE, C.; TAUBE, D. 2012 *De novo DQ donor-specific antibodies are associated with a significant risk of antibody-mediated rejection and transplant glomerulopathy*. *Transplantation*. 172–177  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22735711/>  
URN: DOI: 10.1097/TP.0b013e3182543950  
URN: PubMed ID: 22735711

24 BRETSCHER, P. 1999 *A two-step, two-signal model for the primary activation of precursor helper T cells*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 185–190  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9874793/>  
URN: DOI: 10.1073/pnas.96.1.185  
URN: PMCID: PMC15114  
URN: PubMed ID: 9874793

25 BERNARD, A.; LAMY AND, L.; ALBERTI, I. 2002 *The two-signal model of T-cell activation after 30 years*. *Transplantation*. S31-5  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11810059/>  
URN: DOI: 10.1097/00007890-200201151-00011  
URN: PubMed ID: 11810059

26 MURPHY, K.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; JANEWAY, C. 002008 *Janeway's immunobiology*. Garland Science; London : Taylor & Francis [distributor]. New York

27 TUNG, J.; HEYDARI, K.; TIROUVANZIAM, R.; SAHAF, B.; PARKS, D.; HERZENBERG, L.; HERZENBERG, L. 2007 *Modern Flow Cytometry: A Practical Approach*. *Clinics in laboratory medicine*. 453-68, v  
URL:  
[https://www.researchgate.net/publication/6181331\\_Modern\\_Flow\\_Cytometry\\_A\\_Practical\\_Approach](https://www.researchgate.net/publication/6181331_Modern_Flow_Cytometry_A_Practical_Approach)  
URN: DOI: 10.1016/j.cl.2007.05.001

28 [www.biolegend.com/en-us/cell-markers](http://www.biolegend.com/en-us/cell-markers) *Cell Markers* [Zugriff 21.01.2020]

29 [www.miltenyibiotec.com/\\_Resources/Persistent/321261780bc5f2b6e4257bd90cfa8c54a9500c10/T%20Cell%20Quick%20Guide.pdf](http://www.miltenyibiotec.com/_Resources/Persistent/321261780bc5f2b6e4257bd90cfa8c54a9500c10/T%20Cell%20Quick%20Guide.pdf) *The broadest portfolio for your T cell research* [Zugriff 21.01.2020]

30 LUCKHEERAM, R.; ZHOU, R.; VERMA, A.; XIA, B. 2012 *CD4<sup>+</sup>T cells: differentiation and functions*. *Clinical & developmental immunology*. 925135  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22474485/>  
URN: DOI: 10.1155/2012/925135  
URN: PMCID: PMC3312336  
URN: PubMed ID: 22474485

31 O'GARRA, A. 1998 *Cytokines induce the development of functionally heterogeneous T helper cell subsets*. *Immunity*. 275–283  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9529145/>  
URN: DOI: 10.1016/s1074-7613(00)80533-6  
URN: PubMed ID: 9529145

- 32 REN, W.; LIU, G.; YIN, J.; TAN, B.; WU, G.; BAZER, F.; PENG, Y.; YIN, Y. 2017 *Amino-acid transporters in T-cell activation and differentiation*. *Cell death & disease*. e2655  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28252650/>  
URN: DOI: 10.1038/cddis.2016.222  
URN: PMCID: PMC5386510  
URN: PubMed ID: 28252650
- 33 ZHU, J.; YAMANE, H.; PAUL, W. 2010 *Differentiation of effector CD4 T cell populations* (\*). *Annual Review of Immunology*. 445–489  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3502616/>  
URN: DOI: 10.1146/annurev-immunol-030409-101212  
URN: PMCID: PMC3502616  
URN: PubMed ID: 20192806
- 34 ZHANG, N.; BEVAN, M. 2011 *CD8<sup>+</sup> T Cells: Foot Soldiers of the Immune System*. *Immunity*. 161–168  
URL: [https://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613\(11\)00303-7](https://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613(11)00303-7)  
URN: DOI: 10.1016/j.immuni.2011.07.010
- 35 RUSSELL, J.; LEY, T. 2002 *Lymphocyte-mediated cytotoxicity*. *Annual Review of Immunology*. 323–370  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11861606/>  
URN: DOI: 10.1146/annurev.immunol.20.100201.131730  
URN: PubMed ID: 11861606
- 36 ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; et al. 2002 *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science. New York
- 37 MACALLAN, D.; BORGHANS, J.; ASQUITH, B. 2017 *Human T Cell Memory: A Dynamic View*. *Vaccines*  
URL: 25.12.2019  
URN: DOI: 10.3390/vaccines5010005  
URN: PMCID: PMC5371741  
URN: PubMed ID: 28165397
- 38 BEVINGTON, S.; CAUCHY, P.; WITHERS, D.; LANE, P.; COCKERILL, P. 2017 *T Cell Receptor and Cytokine Signaling Can Function at Different Stages to Establish and Maintain Transcriptional Memory and Enable T Helper Cell Differentiation*. *Frontiers in Immunology*  
URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2017.00204/full>  
URN: DOI: 10.3389/fimmu.2017.00204
- 39 MAHNKE, Y.; BRODIE, T.; SALLUSTO, F.; ROEDERER, M.; LUGLI, E. 2013 *The who's who of T-cell differentiation: human memory T-cell subsets*. *European journal of immunology*. 2797–2809  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24258910/>  
URN: DOI: 10.1002/eji.201343751  
URN: PubMed ID: 24258910
- 40 NANKIVELL, B.; ALEXANDER, S. 2010 *Rejection of the kidney allograft*. *The New England journal of medicine*. 1451–1462  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20925547/>  
URN: DOI: 10.1056/NEJMra0902927  
URN: PubMed ID: 20925547
- 41 EIKMANS, M.; GIELIS, E.; LEDEGANCK, K.; YANG, J.; ABRAMOWICZ, D.; CLAAS, F. 2018 *Non-invasive Biomarkers of Acute Rejection in Kidney Transplantation: Novel Targets and Strategies*. *Frontiers in medicine*. 358  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30671435/>  
URN: DOI: 10.3389/fmed.2018.00358  
URN: PMCID: PMC6331461  
URN: PubMed ID: 30671435

- 42 FURL, D.; BENICHO, G.; KIM, J.; YEH, H. 2017 *A Paradigm Shift on the Question of B Cells in Transplantation? Recent Insights on Regulating the Alloresponse*. *Frontiers in Immunology*. 80  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28210263/>  
URN: DOI: 10.3389/fimmu.2017.00080  
URN: PMCID: PMC5288351  
URN: PubMed ID: 28210263
- 43 ROBERTS, D.; JIANG, S.; CHADBAN, S. 2012 *The treatment of acute antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients-a systematic review*. *Transplantation*. 775–783  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23032865/>  
URN: DOI: 10.1097/TP.0b013e31825d1587  
URN: PubMed ID: 23032865
- 44 SAADI, S.; TAKAHASHI, T.; HOLZKNECHT, R.; PLATT, J. 2004 *Pathways to acute humoral rejection*. *The American journal of pathology*. 1073–1080  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14982860/>  
URN: DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63194-X  
URN: PMCID: PMC1614720  
URN: PubMed ID: 14982860
- 45 NICKELEIT, V.; MIHATSCH, M. 2003 *Kidney transplants, antibodies and rejection: is C4d a magic marker?* *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2232–2239  
URL: <https://academic.oup.com/ndt/article/18/11/2232/1845570>  
URN: DOI: 10.1093/ndt/gfg304
- 46 TAKEDA, A.; OTSUKA, Y.; HORIKE, K.; INAGUMA, D.; HIRAMITSU, T.; YAMAMOTO, T.; NANMOKU, K.; GOTO, N.; WATARAI, Y.; UCHIDA, K.; MOROZUMI, K.; KOBAYASHI, T. 2012 *Significance of C4d deposition in antibody-mediated rejection*. *Clinical transplantation*. 43–48  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22747475/>  
URN: DOI: 10.1111/j.1399-0012.2012.01642.x  
URN: PubMed ID: 22747475
- 47 RANJAN, P.; NADA, R.; JHA, V.; SAKHUJA, V.; JOSHI, K. 2008 *The role of C4d immunostaining in the evaluation of the causes of renal allograft dysfunction*. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 1735–1741  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18065805/>  
URN: DOI: 10.1093/ndt/gfm843  
URN: PubMed ID: 18065805
- 48 FREITAS, D. de; SELLARÉS, J.; MENGEL, M.; CHANG, J.; HIDALGO, L.; FAMULSKI, K.; SIS, B.; EINECKE, G.; HALLORAN, P. 2012 *The nature of biopsies with "borderline rejection" and prospects for eliminating this category*. *American journal of transplantation* : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 191–201  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21992503/>  
URN: DOI: 10.1111/j.1600-6143.2011.03784.x  
URN: PubMed ID: 21992503
- 49 MCLAREN, A.; FUGGLE, S.; WELSH, K.; GRAY, D.; MORRIS, P. 2000 *Chronic allograft failure in human renal transplantation: a multivariate risk factor analysis*. *Annals of surgery*. 98–103  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10862201/>  
URN: DOI: 10.1097/00000658-200007000-00014  
URN: PMCID: PMC1421113  
URN: PubMed ID: 10862201
- 50 KHAN, H.; MUBARAK, M.; AZIZ, T.; AHMED, E.; FAZAL AKHTER, S.; KAZI, J.; AA NAQVI, S.; AH RIZVI, S. 2014 *Prevalence and risk factors for early chronic allograft nephropathy in a live related renal transplant program*. *Journal of nephropathology*. 69–79

- URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24772400/>  
URN: DOI: 10.12860/jnp.2014.15  
URN: PMCID: PMC3999587  
URN: PubMed ID: 24772400
- 51 HOSTETTER, T. 1994 *Chronic transplant rejection*. *Kidney International*. 266–279  
URN: DOI: 10.1038/ki.1994.269  
URN: PubMed ID: 7933845
- 52 [web.stanford.edu/dept/HPS/transplant/html/chronic.html](http://web.stanford.edu/dept/HPS/transplant/html/chronic.html) *Kidney Transplantation: Past, Present, and Future* [Zugriff 26.12.2019]
- 53 OLBRICHT, C. 1999 *Lipidstoffwechselstrungen nach Organtransplantation: Ein duales Risiko*. *Dtsch Arztebl International*. A-411  
URL: <https://www.aerzteblatt.de/archiv/15655>
- 54 BÖHMIG, G.; EXNER, M.; WATSCHINGER, B.; REGELE, H. *C4d - Ein attraktiver Marker für humorale Abstoßung?* 74–84  
URL: [https://www.researchgate.net/publication/301111387\\_C4d\\_-\\_Ein\\_attraktiver\\_Marker\\_fur\\_humorale\\_Abstossung](https://www.researchgate.net/publication/301111387_C4d_-_Ein_attraktiver_Marker_fur_humorale_Abstossung)  
URN: DOI: 10.1007/978-3-642-59464-9\_8
- 55 SMITH, R.; COLVIN, R. 2012 *Chronic alloantibody mediated rejection*. *Seminars in immunology*. 115–121  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22051115/>  
URN: DOI: 10.1016/j.smim.2011.09.002  
URN: PMCID: PMC3728653  
URN: PubMed ID: 22051115
- 56 JOOSTEN, S.; SIJPKENS, Y.; VAN KOOTEN, C.; PAUL, L. 2005 *Chronic renal allograft rejection: pathophysiologic considerations*. *Kidney International*. 1–13  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15954891/>  
URN: DOI: 10.1111/j.1523-1755.2005.00376.x  
URN: PubMed ID: 15954891
- 57 BHATTI, A.; USMAN, M. 2015 *Chronic Renal Transplant Rejection and Possible Anti-Proliferative Drug Targets*. *Cureus*  
URL: <https://www.cureus.com/articles/3505-chronic-renal-transplant-rejection-and-possible-anti-proliferative-drug-targets>  
URN: DOI: 10.7759/cureus.376
- 58 DANOVIATCH, G. 2001 *Immunosuppressive medications for renal transplantation: a multiple choice question*. *Kidney International*. 388–402  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11135104/>  
URN: DOI: 10.1046/j.1523-1755.2001.00501.x  
URN: PubMed ID: 11135104
- 59 LEBRANCHU, Y.; BRIDOUX, F.; BÜCHLER, M.; LE MEUR, Y.; ETIENNE, I.; TOUPANCE, O.; LIGNY, B. de; TOUCHARD, G.; MOULIN, B.; LE POGAMP, P.; REIGNEAU, O.; GUIGNARD, M.; RIFLE, G. 2002 *Immunoprophylaxis with Basiliximab Compared with Antithymocyte Globulin in Renal Transplant Patients Receiving MMF-containing Triple Therapy*. *American Journal of Transplantation*. 48–56  
URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1034/j.1600-6143.2002.020109.x>  
URN: DOI: 10.1034/j.1600-6143.2002.020109.x
- 60 [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548587/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548587/) *LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury* [Zugriff 25.01.2020]
- 61 PESCOVITZ, M. 2006 *Rituximab, an Anti-CD20 Monoclonal Antibody: History and Mechanism of Action*. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 859–866  
URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1600-6143.2006.01288.x>  
URN: DOI: 10.1111/j.1600-6143.2006.01288.x

- 62 BARNETT, A.; HADJIANASTASSIOU, V.; MAMODE, N. 2013 *Rituximab in renal transplantation*. *Transplant International*. 563–575  
 URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/tri.12072>  
 URN: DOI: 10.1111/tri.12072
- 63 ISSA, N.; FISHMAN, J.; SNYDMAN, D. 2009 *Infectious Complications of Antilymphocyte Therapies in Solid Organ Transplantation*. *Clinical Infectious Diseases*. 772–786  
 URL: <https://academic.oup.com/cid/article/48/6/772/285729>  
 URN: DOI: 10.1086/597089
- 64 HARDINGER, K.; BRENNAN, D.; KLEIN, C. 2013 *Selection of induction therapy in kidney transplantation*. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*. 662–672  
 URN: DOI: 10.1111/tri.12043
- 65 MONCHAUD, C.; MARQUET, P. 2009 *Pharmacokinetic optimization of immunosuppressive therapy in thoracic transplantation: part I*. *Clinical pharmacokinetics*. 419–462  
 URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19691367/>  
 URN: DOI: 10.2165/11317230-000000000-00000  
 URN: PMCID: PMC3678153  
 URN: PubMed ID: 19691367
- 66 GARNOCK-JONES, K. 2015 *Tacrolimus prolonged release (Envarsus®): a review of its use in kidney and liver transplant recipients*. *Drugs*. 309–320  
 URN: DOI: 10.1007/s40265-015-0349-2  
 URN: PubMed ID: 25613762
- 67 GUZERA, M.; SZULC-DĄBROWSKA, L.; CYWINSKA, A.; ARCHER, J.; WINNICKA, A. 2016 *In Vitro Influence of Mycophenolic Acid on Selected Parameters of Stimulated Peripheral Canine Lymphocytes*. *PLoS one*. e0154429  
 URL: [https://www.researchgate.net/publication/301828893\\_In\\_Vitro\\_Influence\\_of\\_Mycophenolic\\_Acid\\_on\\_Selected\\_Parameters\\_of\\_Stimulated\\_Peripheral\\_Canine\\_Lymphocytes](https://www.researchgate.net/publication/301828893_In_Vitro_Influence_of_Mycophenolic_Acid_on_Selected_Parameters_of_Stimulated_Peripheral_Canine_Lymphocytes)  
 URN: DOI: 10.1371/journal.pone.0154429
- 68 SMITS, T.; COX, S.; FUKUDA, T.; SHERBOTIE, J.; WARD, R.; GOEBEL, J.; VINKS, A. 2014 *Effects of unbound mycophenolic acid on inosine monophosphate dehydrogenase inhibition in pediatric kidney transplant patients*. *Ther Drug Monit*. 716–723  
 URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24739663/>  
 URN: DOI: 10.1097/FTD.0000000000000081  
 URN: PMCID: PMC4687018  
 URN: PubMed ID: 24739663
- 69 [www.deutsche-apotheker-zeitung.de/daz-az/2004/daz-17-2004/uid-11820](http://www.deutsche-apotheker-zeitung.de/daz-az/2004/daz-17-2004/uid-11820)  
*Nierentransplantation: Mycophenolsäure-Formulierung reduziert Organabstoßung* [Zugriff 09.01.2020]
- 70 ITO, K.; CHUNG, K.; ADCOCK, I. 2006 *Update on glucocorticoid action and resistance*. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 522–543  
 URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16522450>  
 URN: DOI: 10.1016/j.jaci.2006.01.032  
 URN: PubMed ID: 16522450
- 71 [www.deutsche-apotheker-zeitung.de/daz-az/2012/daz-44-2012/aufgaben-der-glucocorticoide](http://www.deutsche-apotheker-zeitung.de/daz-az/2012/daz-44-2012/aufgaben-der-glucocorticoide)  
*Aufgaben der Glucocorticoide* [Zugriff 10.03.2020]
- 72 [www.vetpharm.uzh.ch/wir/uc000000/0000\\_03.htm?Submit=done](http://www.vetpharm.uzh.ch/wir/uc000000/0000_03.htm?Submit=done)  
*Pharmakokinetik der Glukokortikoide* [Zugriff 26.01.2020]
- 73 [www.arznei-telegramm.de/html/2001\\_09/0109089\\_01.html](http://www.arznei-telegramm.de/html/2001_09/0109089_01.html)  
*ZYTOCHROM P 450: VIELE INTERAKTIONEN, WENIGE GRUNDREGELN* [Zugriff 26.12.2019]

- 74 STRIMBU, K.; TAVEL, J. 2010 *What are biomarkers? Current opinion in HIV and AIDS*. 463–466  
 URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20978388/>  
 URN: DOI: 10.1097/COH.0b013e32833ed177  
 URN: PMCID: PMC3078627  
 URN: PubMed ID: 20978388
- 75 [www.pharmazeutische-zeitung.de/ausgabe-122009/indikatoren-fuer-diagnose-und-therapie/](http://www.pharmazeutische-zeitung.de/ausgabe-122009/indikatoren-fuer-diagnose-und-therapie/) *Indikatoren für Diagnose und Therapie* [Zugriff 29.12.2019]
- 76 KOIVISTO, V. 2008 *Discovery of dipeptidyl-peptidase IV--a 40 year journey from bench to patient*. *Diabetologia*. 1088–1089  
 URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18385972/>  
 URN: DOI: 10.1007/s00125-008-0985-0  
 URN: PubMed ID: 18385972
- 77 HOPUSU-HAVU, V.; GLENNER, G. 1966 *A new dipeptide naphthylamidase hydrolyzing glycyl-prolyl-β-naphthylamide*. *Histochemie*. 197–201  
 URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00577838>  
 URN: DOI: 10.1007/BF00577838
- 78 GORRELL, M.; GYSBERS, V.; MCCAUGHAN, G. 2001 *CD26: A Multifunctional Integral Membrane and Secreted Protein of Activated Lymphocytes*. *Scandinavian Journal of Immunology*. 249–264  
 URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-3083.2001.00984.x>  
 URN: DOI: 10.1046/j.1365-3083.2001.00984.x
- 79 KLEMMANN, C.; WAGNER, L.; STEPHAN, M.; HÖRSTEN, S. von. 2016 *Cut to the chase: a review of CD26/dipeptidyl peptidase-4's (DPP4) entanglement in the immune system*. *Clinical and experimental immunology*. 1–21  
 URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26919392/>  
 URN: DOI: 10.1111/cei.12781  
 URN: PMCID: PMC4908298  
 URN: PubMed ID: 26919392
- 80 ITOU, M.; KAWAGUCHI, T.; TANIGUCHI, E.; SATA, M. 2013 *Dipeptidyl peptidase-4: a key player in chronic liver disease*. *World journal of gastroenterology*. 2298–2306  
 URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3631980/>  
 URN: DOI: 10.3748/wjg.v19.i15.2298  
 URN: PMCID: PMC3631980  
 URN: PubMed ID: 23613622
- 81 PACHECO, R.; FRANCO, C.; R *Role of CD 26-adenosine deaminase interaction in T cell-mediated immunity*  
 URL: [https://www.researchgate.net/publication/286407543\\_Role\\_of\\_CD26-adenosine\\_deaminase\\_interaction\\_in\\_T\\_cell-mediated\\_immunity](https://www.researchgate.net/publication/286407543_Role_of_CD26-adenosine_deaminase_interaction_in_T_cell-mediated_immunity)
- 82 IKEDA, T.; KUMAGAI, E.; IWATA, S.; YAMAKAWA, A. 2013 *Soluble CD26/Dipeptidyl Peptidase IV Enhances the Transcription of IL-6 and TNF-α in THP-1 Cells and Monocytes*. *PLoS one*. e66520  
 URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3689814/>  
 URN: DOI: 10.1371/journal.pone.0066520  
 URN: PMCID: PMC3689814  
 URN: PubMed ID: 23805228
- 83 MATSUNO, O.; MIYAZAKI, E.; NUREKI, S.; UENO, T.; ANDO, M.; KUMAMOTO, T. 2007 *Soluble CD26 is inversely Associated with Disease Severity in Patients with Chronic Eosinophilic Pneumonia*. *Biomarker insights*. 201–204  
 URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2722761/>  
 URN: PMCID: PMC2722761  
 URN: PubMed ID: 19690650



- 84 DURINX, C.; LAMBEIR, A.; BOSMANS, E.; FALMAGNE, J.; BERGHMANS, R.; HAEMERS, A.; SCHARPÉ, S.; MEESTER, I. de. 2000 *Molecular characterization of dipeptidyl peptidase activity in serum: soluble CD26/dipeptidyl peptidase IV is responsible for the release of X-Pro dipeptides*. *European journal of biochemistry*. 5608–5613  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10951221/>  
URN: DOI: 10.1046/j.1432-1327.2000.01634.x  
URN: PubMed ID: 10951221
- 85 GORRELL, M.; ABBOTT, C.; KÄHNE, T.; LEVY, M.; CHURCH, W.; MCCAUGHAN, G. *Relating Structure to Function in the Beta-Propeller Domain of Dipeptidyl Peptidase IV*. 89–95  
URL: [https://www.researchgate.net/publication/226708342\\_Relating\\_Structure\\_to\\_Function\\_in\\_the\\_Beta-Propeller\\_Domain\\_of\\_Dipeptidyl\\_Peptidase\\_IV](https://www.researchgate.net/publication/226708342_Relating_Structure_to_Function_in_the_Beta-Propeller_Domain_of_Dipeptidyl_Peptidase_IV)
- 86 WEIHOFEN, W.; LIU, J.; REUTTER, W.; SAENGER, W.; FAN, H. 2004 *Crystal structure of CD26/dipeptidyl-peptidase IV in complex with adenosine deaminase reveals a highly amphiphilic interface*. *The Journal of biological chemistry*. 43330–43335  
URN: DOI: 10.1074/jbc.M405001200  
URN: PubMed ID: 15213224
- 87 CHEN, X. 2006 *Biochemical properties of recombinant prolyl dipeptidases DPP-IV and DPP8*. *Advances in experimental medicine and biology*. 27–32  
URN: DOI: 10.1007/0-387-32824-6\_3  
URN: PubMed ID: 16700505
- 88 ENGEL, M.; HOFFMANN, T.; WAGNER, L.; WERMANN, M.; HEISER, U.; KIEFERSAUER, R.; HUBER, R.; BODE, W.; DEMUTH, H.-U.; BRANDSTETTER, H. 2003 *The crystal structure of dipeptidyl peptidase IV (CD26) reveals its functional regulation and enzymatic mechanism*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 5063–5068  
URN: DOI: 10.1073/pnas.0230620100  
URN: PMCID: PMC154298  
URN: PubMed ID: 12690074
- 89 OHNUMA, K.; TAKAHASHI, N.; YAMOCHI, T.; HOSONO, O.; DANG, N.; MORIMOTO, C. 2008 *Role of CD26/dipeptidyl peptidase IV in human T cell activation and function*. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*. 2299–2310  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17981712/>  
URN: DOI: 10.2741/2844  
URN: PubMed ID: 17981712
- 90 PARK, D.-S.; KIM, K.; JANG, M.; CHOI, S.-C. 2018 *Role of dipeptidyl peptidase-4 as a potentiator of activin/nodal signaling pathway*. *BMB reports*. 636–641  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6330939/>  
URN: DOI: 10.5483/BMBRep.2018.51.12.210  
URN: PMCID: PMC6330939  
URN: PubMed ID: 30463640
- 91 ANTONYAN, A. 2016 *Natural substrates of dipeptidyl peptidase IV*. 33–42  
URL: <http://www.yasu.am/files/7.%20THE%20NATURAL%20SUBSTRATES%20OF%20DIPEPTIDYL%20PEPTIDASE%20IV.pdf>
- 92 MULVIHILL, E.; DRUCKER, D. 2014 *Pharmacology, physiology, and mechanisms of action of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors*. *Endocrine reviews*. 992–1019  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25216328/>  
URN: DOI: 10.1210/er.2014-1035  
URN: PMCID: PMC7108477  
URN: PubMed ID: 25216328
- 93 KAJIYAMA, H.; KIKKAWA, F.; KHIN, E.; SHIBATA, K.; INO, K.; MIZUTANI, S. 2003 *Dipeptidyl peptidase IV overexpression induces up-regulation of E-cadherin and tissue inhibitors*

of matrix metalloproteinases, resulting in decreased invasive potential in ovarian carcinoma cells. *Cancer research*. 2278–2283

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12727850/>

URN: PubMed ID: 12727850

94 LEI, Y.; HU, L.; YANG, G.; PIAO, L.; JIN, M.; CHENG, X. 2017 *Dipeptidyl Peptidase-IV Inhibition for the Treatment of Cardiovascular Disease - Recent Insights Focusing on Angiogenesis and Neovascularization*. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*. 770–776

URL: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/circj/81/6/81\\_CJ-16-1326/\\_pdf/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/circj/81/6/81_CJ-16-1326/_pdf/-char/en)

URN: DOI: 10.1253/circj.CJ-16-1326

URN: PubMed ID: 28344207

95 DRUCKER, D. 2007 *Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibition and the Treatment of Type 2 Diabetes*. *Diabetes Care*. 1335–1343

URL: <https://care.diabetesjournals.org/content/30/6/1335>

URN: DOI: 10.2337/dc07-0228

96 ARAN, J.; COLOMER, D.; MATUTES, E.; VIVES-CORRONS, J.; FRANCO, R. 1991 *Presence of adenosine deaminase on the surface of mononuclear blood cells: immunochemical localization using light and electron microscopy*. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*. 1001–1008

URN: DOI: 10.1177/39.8.1856451

URN: PubMed ID: 1856451

97 CIRUELA, F.; SAURA, C.; CANELA, E.; MALLOL, J.; LLUIS, C.; FRANCO, R. 1996 *Adenosine deaminase affects ligand-induced signalling by interacting with cell surface adenosine receptors*. *FEBS letters*. 219–223

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8601428/>

URN: DOI: 10.1016/0014-5793(96)00023-3

URN: PubMed ID: 8601428

98 HERRERA, C.; CASADÓ, V.; CIRUELA, F.; SCHOFIELD, P.; MALLOL, J.; LLUIS, C.; FRANCO, R. 2001 *Adenosine A2B receptors behave as an alternative anchoring protein for cell surface adenosine deaminase in lymphocytes and cultured cells*. *Molecular pharmacology*. 127–134

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11125033/>

URN: PubMed ID: 11125033

99 SUN, Y.; HUANG, P. 2016 *Adenosine A2B Receptor: From Cell Biology to Human Diseases*. *Frontiers in chemistry*. 37

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27606311/>

URN: DOI: 10.3389/fchem.2016.00037

URN: PMCID: PMC4995213

URN: PubMed ID: 27606311

100 DONG, R.; KAMEOKA, J.; HEGEN, M.; TANAKA, T.; XU, Y.; SCHLOSSMAN, S.; MORIMOTO, C. 1996 *Characterization of adenosine deaminase binding to human CD26 on T cells and its biologic role in immune response*. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 1349–1355

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8568233/>

URN: PubMed ID: 8568233

101 DONG, R.; TACHIBANA, K.; HEGEN, M.; MUNAKATA, Y.; CHO, D.; SCHLOSSMAN, S.; MORIMOTO, C. 1997 *Determination of adenosine deaminase binding domain on CD26 and its immunoregulatory effect on T cell activation*. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 6070–6076

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9550406/>

URN: PubMed ID: 9550406

102 [www.niaid.nih.gov/diseases-conditions/severe-combined-immunodeficiency-scid](http://www.niaid.nih.gov/diseases-conditions/severe-combined-immunodeficiency-scid) *Severe Combined Immunodeficiency (SCID)* [Zugriff 30.12.2019]

- 103 KOCH, G.; SHOWS, T. 1980 *Somatic cell genetics of adenosine deaminase expression and severe combined immunodeficiency disease in humans*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 4211–4215  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6933468>  
URN: DOI: 10.1073/pnas.77.7.4211  
URN: PMCID: PMC349801  
URN: PubMed ID: 6933468
- 104 HERSHFIELD, M. *Adenosine Deaminase Deficiency*  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20301656/>  
URN: PubMed ID: 20301656
- 105 [www.hrsa.gov/sites/default/files/hrsa/advisory-committees/heritable-disorders/rusp/previous-nominations/scid-external-evidence-review-report.pdf](http://www.hrsa.gov/sites/default/files/hrsa/advisory-committees/heritable-disorders/rusp/previous-nominations/scid-external-evidence-review-report.pdf) *EVIDENCE REVIEW: Severe Combined Immunodeficiency (SCID)* [Zugriff 30.12.2019]
- 106 BAUVOIS, B. 1988 *A collagen-binding glycoprotein on the surface of mouse fibroblasts is identified as dipeptidyl peptidase IV*. Biochemical Journal. 723–731  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1149208/pdf/biochemj00229-0102.pdf>  
URN: DOI: 10.1042/bj2520723
- 107 DANG, N.; TORIMOTO, Y.; SCHLOSSMAN, S.; MORIMOTO, C. 1990 *Human CD4 helper T cell activation: functional involvement of two distinct collagen receptors, 1F7 and VLA integrin family*. Journal of Experimental Medicine. 649–652  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2188344/>  
URN: DOI: 10.1084/jem.172.2.649  
URN: PMCID: PMC2188344  
URN: PubMed ID: 2165129
- 108 MORTIER, A.; GOUWY, M.; VAN DAMME, J.; PROOST, P.; STRUYF, S. 2016 *CD26/dipeptidylpeptidase IV-chemokine interactions: double-edged regulation of inflammation and tumor biology*. Journal of leukocyte biology. 955–969  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26744452/>  
URN: DOI: 10.1189/jlb.3MR0915-401R  
URN: PMCID: PMC7166560  
URN: PubMed ID: 26744452
- 109 CHENG, H.-C.; ABDEL-GHANY, M.; PAULI, B. 2003 *A novel consensus motif in fibronectin mediates dipeptidyl peptidase IV adhesion and metastasis*. The Journal of biological chemistry. 24600–24607  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12716896/>  
URN: DOI: 10.1074/jbc.M303424200  
URN: PubMed ID: 12716896
- 110 NARGIS, T.; CHAKRABARTI, P. 2018 *Significance of circulatory DPP4 activity in metabolic diseases*. IUBMB life. 112–119  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29331088/>  
URN: DOI: 10.1002/iub.1709  
URN: PubMed ID: 29331088
- 111 HATANO, R.; OHNUMA, K.; YAMAMOTO, J.; DANG, N.; MORIMOTO, C. 2013 *CD26-mediated co-stimulation in human CD8(+) T cells provokes effector function via pro-inflammatory cytokine production*. Immunology. 165–172  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3575769/>  
URN: DOI: 10.1111/imm.12028  
URN: PMCID: PMC3575769  
URN: PubMed ID: 23113658
- 112 SALGADO, F.; PÉREZ-DÍAZ, A.; VILLANUEVA, N.; LAMAS, O.; ARIAS, P.; NOGUEIRA, M. 2012 *CD26: A negative selection marker for human Treg cells*. Cytometry Part A. 843–855

URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cyto.a.22117>  
URN: DOI: 10.1002/cyto.a.22117

113 GARCIA SANTANA, C.; TUNG, J.; GULNIK, S. 2014 *Human treg cells are characterized by low/negative CD6 expression*. *Cytometry Part A*. 901–908  
URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cyto.a.22513f>  
URN: DOI: 10.1002/cyto.a.22513

114 BENGSCHE, B.; SEIGEL, B.; FLECKEN, T.; WOLANSKI, J.; BLUM, H.; THIMME, R. 2012 *Human Th17 cells express high levels of enzymatically active dipeptidylpeptidase IV (CD26)*. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 5438–5447  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22539793/>  
URN: DOI: 10.4049/jimmunol.1103801  
URN: PubMed ID: 22539793

115 SEONG, J.-M.; YEE, J.; GWAK, H. 2019 *Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors lower the risk of autoimmune disease in patients with type 2 diabetes mellitus: A nationwide population-based cohort study*. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 1719–1727  
URN: DOI: 10.1111/bcp.13955

116 JUNE, C.; BLUESTONE, J.; NADLER, L.; THOMPSON, C. 1994 *The B7 and CD28 receptor families*. *Immunology today*. 321–331  
URL:  
[https://www.researchgate.net/publication/15677117\\_The\\_B7\\_and\\_CD28\\_receptor\\_families](https://www.researchgate.net/publication/15677117_The_B7_and_CD28_receptor_families)  
URN: DOI: 10.1016/0167-5699(94)90080-9

117 JUNE, C.; LEDBETTER, J.; LINSLEY, P.; THOMPSON, C. 1990 *Role of the CD28 receptor in T-cell activation*. *Immunology today*. 211–216  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2162180/>  
URN: DOI: 10.1016/0167-5699(90)90085-n  
URN: PubMed ID: 2162180

118 KÜNDIG, T.; SHAHINIAN, A.; KAWAI, K.; MITTRÜCKER, H.; SEBZDA, E.; BACHMANN, M.; MAK, T.; OHASHI, P. 1996 *Duration of TCR stimulation determines costimulatory requirement of T cells*. *Immunity*. 41–52  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8758893/>  
URN: DOI: 10.1016/s1074-7613(00)80308-8  
URN: PubMed ID: 8758893

119 BRUNET, J.; DENIZOT, F.; LUCIANI, M.; ROUX-DOSSETO, M.; SUZAN, M.; MATTEI, M.; GOLSTEIN, P. 1987 *A new member of the immunoglobulin superfamily--CTLA-4*. *Nature*. 267–270  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3496540/>  
URN: DOI: 10.1038/328267a0  
URN: PubMed ID: 3496540

120 SANSOM, D. 2000 *CD28, CTLA-4 and their ligands: who does what and to whom?* *Immunology*. 169–177  
URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-2567.2000.00121.x>  
URN: DOI: 10.1046/j.1365-2567.2000.00121.x

121 WALKER, L.; SANSOM, D. 2015 *Confusing signals: recent progress in CTLA-4 biology*. *Trends in immunology*. 63–70  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25582039/>  
URN: DOI: 10.1016/j.it.2014.12.001  
URN: PMCID: PMC4323153  
URN: PubMed ID: 25582039

122 INTLEKOFER, A.; THOMPSON, C. 2013 *At the bench: preclinical rationale for CTLA-4 and PD-1 blockade as cancer immunotherapy*. *Journal of leukocyte biology*. 25–39  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23625198/>  
URN: DOI: 10.1189/jlb.1212621

URN: PMCID: PMC3685017

URN: PubMed ID: 23625198

123 SCHILDBERG, F.; KLEIN, S.; FREEMAN, G.; SHARPE, A. 2016 *Coinhibitory Pathways in the B7-CD28 Ligand-Receptor Family*. *Immunity*. 955–972

URL: [https://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613\(16\)30156-](https://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613(16)30156-X?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS107476131630156X%3Fshowall%3Dtrue)

X?\_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS107476131630156X%3Fshowall%3Dtrue

URN: DOI: 10.1016/j.immuni.2016.05.002

124 KRUMMEL, M.; ALLISON, J. 1995 *CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation*. *Journal of Experimental Medicine*. 459–465

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7543139/>

URN: DOI: 10.1084/jem.182.2.459

URN: PMCID: PMC2192127

URN: PubMed ID: 7543139

125 LENSCHOW, D.; HEROLD, K.; RHEE, L.; PATEL, B.; KOONS, A.; QIN, H.; FUCHS, E.; SINGH, B.; THOMPSON, C.; BLUESTONE, J. 1996 *CD28/B7 regulation of Th1 and Th2 subsets in the development of autoimmune diabetes*. *Immunity*. 285–293

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8808683/>

URN: DOI: 10.1016/s1074-7613(00)80323-4

URN: PubMed ID: 8808683

126 BERG, M.; ZAVAZAVA, N. 2008 *Regulation of CD28 expression on CD8+ T cells by CTLA-4*. *Journal of leukocyte biology*. 853–863

URN: DOI: 10.1189/jlb.0107065

URN: PubMed ID: 18162511

127 COLLINS, M.; LING, V.; CARRENO, B. 2005 *The B7 family of immune-regulatory ligands*. *Genome biology*. 223

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1175965/>

URN: DOI: 10.1186/gb-2005-6-6-223

URN: PMCID: PMC1175965

URN: PubMed ID: 15960813

128 BOCKO, D.; KOSMACZEWSKA, A.; CISZAK, L.; TEODOROWSKA, R.; FRYDECKA, I. 2002 *Review CD28 Costimulatory Molecule – Expression, Structure and Function*. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. 169–177

129 HATHCOCK, K.; LASZLO, G.; PUCILLO, C.; LINSLEY, P.; HODES, R. 1994 *Comparative analysis of B7-1 and B7-2 costimulatory ligands: expression and function*. *Journal of Experimental Medicine*. 631–640

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2191623/>

URN: DOI: 10.1084/jem.180.2.631

URN: PMCID: PMC2191623

URN: PubMed ID: 7519245

130 FIELDS, P.; FINCH, R.; GRAY, G.; ZOLLNER, R.; THOMAS, J.; STURMHOFEL, K.; LEE, K.; WOLF, S.; GAJEWSKI, T.; FITCH, F. 1998 *B7.1 Is a Quantitatively Stronger Costimulus Than B7.2 in the Activation of Naive CD8+ TCR-Transgenic T Cells*. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 5268–5275

URL:

[https://www.researchgate.net/publication/13465201\\_B71\\_Is\\_a\\_Quantitatively\\_Stronger\\_Costimulus\\_Than\\_B72\\_in\\_the\\_Activation\\_of\\_Naive\\_CD8\\_TCR-Transgenic\\_T\\_Cells](https://www.researchgate.net/publication/13465201_B71_Is_a_Quantitatively_Stronger_Costimulus_Than_B72_in_the_Activation_of_Naive_CD8_TCR-Transgenic_T_Cells)

131 WELLS, A.; WALSH, M.; BLUESTONE, J.; TURKA, L. 2001 *Signaling through CD28 and CTLA-4 controls two distinct forms of T cell anergy*. *The Journal of clinical investigation*. 895–903

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC200935/>

URN: DOI: 10.1172/JCI13220

URN: PMCID: PMC200935  
URN: PubMed ID: 11560959

132 BEHAR, S.; PORCELLI, S.; BECKMAN, E.; BRENNER, M. 1995 *A pathway of costimulation that prevents anergy in CD28- T cells: B7-independent costimulation of CD1-restricted T cells*. Journal of Experimental Medicine. 2007–2018  
URL: <https://rupress.org/jem/article/182/6/2007/25494/A-pathway-of-costimulation-that-prevents-anergy-in>  
URN: DOI: 10.1084/jem.182.6.2007

133 WARD, S. 1996 *CD28: a signalling perspective*. Biochemical Journal. 361–377  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1217631/>  
URN: DOI: 10.1042/bj3180361  
URN: PMCID: PMC1217631  
URN: PubMed ID: 8809021

134 BOISE, L.; MINN, A.; NOEL, P.; JUNE, C.; ACCAVITTI, M.; LINDSTEN, T.; THOMPSON, C. 1995 *CD28 costimulation can promote T cell survival by enhancing the expression of Bcl-XL*. Immunity. 87–98  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7621080>  
URN: DOI: 10.1016/1074-7613(95)90161-2  
URN: PubMed ID: 7621080

135 WALKER, L.; MCLEOD, J.; BOULOUGOURIS, G.; PATEL, Y.; HALL, N.; SANSOM, D. 1998 *Down-regulation of CD28 via Fas (CD95): influence of CD28 on T-cell apoptosis*. Immunology. 41–47  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1364329/>  
URN: DOI: 10.1046/j.1365-2567.1998.00490.x  
URN: PMCID: PMC1364329  
URN: PubMed ID: 9708185

136 GIMMI, C.; FREEMAN, G.; GRIBBEN, J.; SUGITA, K.; FREEDMAN, A.; MORIMOTO, C.; NADLER, L. 1991 *B-cell surface antigen B7 provides a costimulatory signal that induces T cells to proliferate and secrete interleukin 2*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 6575–6579  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC52129/>  
URN: DOI: 10.1073/pnas.88.15.6575  
URN: PMCID: PMC52129  
URN: PubMed ID: 1650475

137 UMLAUF, S.; BEVERLY, B.; LANTZ, O.; SCHWARTZ, R. 1995 *Regulation of interleukin 2 gene expression by CD28 costimulation in mouse T-cell clones: both nuclear and cytoplasmic RNAs are regulated with complex kinetics*. Molecular and cellular biology. 3197–3205  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC230552/>  
URN: DOI: 10.1128/mcb.15.6.3197  
URN: PMCID: PMC230552  
URN: PubMed ID: 7539104

138 LINTERMAN, M.; DENTON, A.; DIVEKAR, D.; ZVETKOVA, I.; KANE, L.; FERREIRA, C.; VELDHOEN, M.; CLARE, S.; DOUGAN, G.; ESPÉLI, M.; SMITH, K. 2014 *CD28 expression is required after T cell priming for helper T cell responses and protective immunity to infection*. eLife  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4241536/>  
URN: DOI: 10.7554/eLife.03180  
URN: PMCID: PMC4241536  
URN: PubMed ID: 25347065

139 KHATTRI, R.; AUGER, J.; GRIFFIN, M.; SHARPE, A.; BLUESTONE, J. 1999 *Lymphoproliferative disorder in CTLA-4 knockout mice is characterized by CD28-regulated activation of Th2 responses*. Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950). 5784–5791  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10229811>  
URN: PubMed ID: 10229811

- 140 TIVOL, E.; BORRIELLO, F.; SCHWEITZER, A.; LYNCH, W.; BLUESTONE, J.; SHARPE, A. 1995 *Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4*. *Immunity*. 541–547  
 URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7584144>  
 URN: DOI: 10.1016/1074-7613(95)90125-6  
 URN: PubMed ID: 7584144
- 141 LINSLEY, P.; LEDBETTER, J. 1993 *The Role of the CD28 Receptor During T Cell Responses to Antigen*. *Annual Review of Immunology*. 191–212  
 URL: <https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.iy.11.040193.001203>  
 URN: DOI: 10.1146/annurev.iy.11.040193.001203
- 142 BEYERSDORF, N.; KERKAU, T.; HÜNIG, T. 2015 *CD28 co-stimulation in T-cell homeostasis: a recent perspective*. *ImmunoTargets and therapy*. 111–122  
 URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4918251/>  
 URN: DOI: 10.2147/ITT.S61647  
 URN: PMCID: PMC4918251  
 URN: PubMed ID: 27471717
- 143 METZLER, B. 1999 *Phenotypic analysis of CTLA-4 and CD28 expression during transient peptide-induced T cell activation in vivo*. *International immunology*. 667–675  
 URL: [https://www.researchgate.net/publication/275386000\\_Phenotypic\\_analysis\\_of\\_CTLA-4\\_and\\_CD28\\_expression\\_during\\_transient\\_peptide-induced\\_T\\_cell\\_activation\\_in\\_vivo](https://www.researchgate.net/publication/275386000_Phenotypic_analysis_of_CTLA-4_and_CD28_expression_during_transient_peptide-induced_T_cell_activation_in_vivo)  
 URN: DOI: 10.1093/intimm/11.5.667
- 144 VALLEJO, A. de; BRANDES, J.; WEYAND, C.; GORONZY, J. 1999 *Modulation of CD28 Expression: Distinct Regulatory Pathways During Activation and Replicative Senescence*. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 6572–6579  
 URL:  
[https://www.researchgate.net/publication/12947177\\_Modulation\\_of\\_CD28\\_Expression\\_Distinct\\_Regulatory\\_Pathways\\_During\\_Activation\\_and\\_Replicative\\_Senescence](https://www.researchgate.net/publication/12947177_Modulation_of_CD28_Expression_Distinct_Regulatory_Pathways_During_Activation_and_Replicative_Senescence)
- 145 BORTHWICK, N.; LOWDELL, M.; SALMON, M.; AKBAR, A. 2000 *Loss of CD28 expression on CD8(+) T cells is induced by IL-2 receptor gamma chain signalling cytokines and type I IFN, and increases susceptibility to activation-induced apoptosis*. *International immunology*. 1005–1013  
 URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10882412/>  
 URN: DOI: 10.1093/intimm/12.7.1005  
 URN: PubMed ID: 10882412
- 146 MOU, D.; ESPINOSA, J.; STEMPORA, L.; IWAKOSHI, N.; KIRK, A. 2015 *Viral-induced CD28 loss evokes costimulation independent alloimmunity*. *The Journal of surgical research*. 241–246  
 URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4442743/>  
 URN: DOI: 10.1016/j.jss.2015.02.033  
 URN: PMCID: PMC4442743  
 URN: PubMed ID: 25801976
- 147 WENG, N.-P.; AKBAR, A.; GORONZY, J. 2009 *CD28(-) T cells: their role in the age-associated decline of immune function*. *Trends in immunology*. 306–312  
 URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2801888/>  
 URN: DOI: 10.1016/j.it.2009.03.013  
 URN: PMCID: PMC2801888  
 URN: PubMed ID: 19540809
- 148 FAGNONI, F.; VESCOVINI, R.; MAZZOLA, M.; BOLOGNA, G.; NIGRO, E.; LAVAGETTO, G.; FRANCESCHI, C.; PASSERI, M.; SANSONI, P. 1996 *Expansion of cytotoxic CD8+ CD28- T cells in healthy ageing people, including centenarians*. *Immunology*. 501–507  
 URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8881749>  
 URN: DOI: 10.1046/j.1365-2567.1996.d01-689.x  
 URN: PMCID: PMC1456634  
 URN: PubMed ID: 8881749

- 149 GORONZY, J.; FULBRIGHT, J.; CROWSON, C.; POLAND, G.; O'FALLON, W.; WEYAND, C. 2001 *Value of immunological markers in predicting responsiveness to influenza vaccination in elderly individuals*. Journal of virology. 12182–12187  
 URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC116115/>  
 URN: DOI: 10.1128/JVI.75.24.12182-12187.2001  
 URN: PMCID: PMC116115  
 URN: PubMed ID: 11711609
- 150 MALY, K.; SCHIRMER, M. 2015 *The story of CD4+ CD28- T cells revisited: solved or still ongoing?* Journal of immunology research. 348746  
 URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4365319/>  
 URN: DOI: 10.1155/2015/348746  
 URN: PMCID: PMC4365319  
 URN: PubMed ID: 25834833
- 151 PAWLIK, A.; OSTANEK, L.; BRZOSKO, I.; BRZOSKO, M.; MASIUK, M.; MACHALINSKI, B.; GAWRONSKA-SZKLARZ, B. 2003 *The expansion of CD4+CD28- T cells in patients with rheumatoid arthritis*. Arthritis research & therapy. R210-3  
 URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC165060/>  
 URN: DOI: 10.1186/ar766  
 URN: PMCID: PMC165060  
 URN: PubMed ID: 12823856
- 152 MURAKAMI, N.; RIELLA, L. 2016 *CD4+ CD28-Negative Cells: Armed and Dangerous*. American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 1045–1046  
 URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ajt.13646>  
 URN: DOI: 10.1111/ajt.13646
- 153 VALBUENA, H.; SHIPKOVA, M.; KLIESCH, S.-M.; MÜLLER, S.; WIELAND, E. 2016 *Comparing the effect of isotopically labeled or structural analog internal standards on the performance of a LC-MS/MS method to determine ciclosporin A, everolimus, sirolimus and tacrolimus in whole blood*. Clinical chemistry and laboratory medicine. 437–446  
 URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26351941/>  
 URN: DOI: 10.1515/cclm-2015-0519  
 URN: PubMed ID: 26351941
- 154 DANAFAR, H.; HAMIDI, M. 2015 *Simple and Sensitive High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method with UV Detection for Mycophenolic Acid Assay in Human Plasma. Application to a Bioequivalence Study*. Advanced pharmaceutical bulletin. 563–568  
 URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26819930/>  
 URN: DOI: 10.15171/apb.2015.076  
 URN: PMCID: PMC4729343  
 URN: PubMed ID: 26819930
- 155 SHIPKOVA, M.; NIEDMANN, P.; ARMSTRONG, V.; SCHÜTZ, E.; WIELAND, E.; SHAW, L.; OELLERICH, M. 1998 *Simultaneous determination of mycophenolic acid and its glucuronide in human plasma using a simple high-performance liquid chromatography procedure*. Clinical Chemistry. 1481–1488  
 URL: <https://academic.oup.com/clinchem/article/44/7/1481/5642797>  
 URN: DOI: 10.1093/clinchem/44.7.1481
- 156 [www.sthda.com/english/wiki/cox-proportional-hazards-model](http://www.sthda.com/english/wiki/cox-proportional-hazards-model) [Zugriff 10.11.2020]
- 157 ZWIENER, I.; BLETTNER, M.; HOMMEL, G. 2011 *Survival Analysis*. Deutsches Arzteblatt Online  
 URL: <https://www.aerzteblatt.de/archiv/81171/Ueberlebenszeitanalyse>  
 URN: DOI: 10.3238/arztebl.2011.0163
- 158 [www.bigdata-insider.de/was-ist-xgboost-a-844791/](http://www.bigdata-insider.de/was-ist-xgboost-a-844791/) *Was ist XGBoost?* [Zugriff 10.11.2020]



- 159 [machinelearningmastery.com/xgboost-for-imbalanced-classification/](https://machinelearningmastery.com/xgboost-for-imbalanced-classification/) *How to Configure XGBoost for Imbalanced Classification* [Zugriff 11.10.2020]
- 160 [www.actuaries.org.uk/news-and-insights/news/article-fitting-data-xgboost](http://www.actuaries.org.uk/news-and-insights/news/article-fitting-data-xgboost) *Fitting data with XGBoost* [Zugriff 10.11.2020]
- 161 [www.datacamp.com/community/tutorials/xgboost-in-python](https://www.datacamp.com/community/tutorials/xgboost-in-python) *Using XGBoost in Python* [Zugriff 10.11.2020]
- 162 [blog.exploratory.io/introduction-to-extreme-gradient-boosting-in-exploratory-7bbec554ac7](https://blog.exploratory.io/introduction-to-extreme-gradient-boosting-in-exploratory-7bbec554ac7) *Introduction to Extreme Gradient Boosting in Exploratory* [Zugriff 10.11.2020]
- 163 [towardsdatascience.com/be-careful-when-interpreting-your-features-importance-in-xgboost-6e16132588e7](https://towardsdatascience.com/be-careful-when-interpreting-your-features-importance-in-xgboost-6e16132588e7) *The Multiple faces of 'Feature importance' in XGBoost* [Zugriff 12.11.2020]
- 164 [medium.com/@JosiahParry/xgboost-feature-importance-ff8b87757d5b](https://medium.com/@JosiahParry/xgboost-feature-importance-ff8b87757d5b) *xgboost feature importance* [Zugriff 12.11.2020]
- 165 [mljar.com/blog/feature-importance-xgboost/](https://mljar.com/blog/feature-importance-xgboost/) *Xgboost Feature Importance Computed in 3 Ways with Python* [Zugriff 12.11.2020]
- 166 [www.statistik-nachhilfe.de/ratgeber/statistik/deskriptive-statistik/visualisierung-von-daten/roc-kurve](http://www.statistik-nachhilfe.de/ratgeber/statistik/deskriptive-statistik/visualisierung-von-daten/roc-kurve) *ROC-Kurve* [Zugriff 10.11.2020]
- 167 [www.analyticsvidhya.com/blog/2020/09/precision-recall-machine-learning/](http://www.analyticsvidhya.com/blog/2020/09/precision-recall-machine-learning/) *Precision vs. Recall – An Intuitive Guide for Every Machine Learning Person* [Zugriff 10.11.2020]
- 168 [www.bmc.com/blogs/confusion-precision-recall/](http://www.bmc.com/blogs/confusion-precision-recall/) *Precision, Recall & Confusion Matrices in Machine Learning* [Zugriff 10.11.2020]
- 169 [regenerativetoday.com/precision-recall-and-f-score-concepts-in-details/](https://regenerativetoday.com/precision-recall-and-f-score-concepts-in-details/) *Precision, Recall, and F Score Concepts in Details* [Zugriff 10.11.2020]
- 170 [machinelearningmastery.com/roc-curves-and-precision-recall-curves-for-imbalanced-classification/](https://machinelearningmastery.com/roc-curves-and-precision-recall-curves-for-imbalanced-classification/) *ROC Curves and Precision-Recall Curves for Imbalanced Classification* [Zugriff 12.11.2020]
- 171 [acutecaretesting.org/en/articles/precision-recall-curves-what-are-they-and-how-are-they-used](https://acutecaretesting.org/en/articles/precision-recall-curves-what-are-they-and-how-are-they-used) *Precision-recall curves – what are they and how are they used?* [Zugriff 12.11.2020]
- 172 [www.geeksforgeeks.org/precision-recall-curve-ml/](https://www.geeksforgeeks.org/precision-recall-curve-ml/) *Precision-Recall Curve | ML* [Zugriff 12.11.2020]
- 173 LEICHT, S. (2013) *CD26 als prädiktiver Marker für die Abstoßung unter der immunsuppressiven Therapie mit Myfortic bei Patienten in der frühen Phase nach Nierentransplantation*, Dissertation. Eberhard Karls Universität Tübingen
- 174 VALLEJO, A.; NESTEL, A.; SCHIRMER, M.; WEYAND, C.; GORONZY, J. 1998 *Aging-related deficiency of CD28 expression in CD4+ T cells is associated with the loss of gene-specific nuclear factor binding activity*. The Journal of biological chemistry. 8119–8129  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9525915/>  
URN: DOI: 10.1074/jbc.273.14.8119  
URN: PubMed ID: 9525915
- 175 BETJES, M.; WIT, E. de; WEIMAR, W.; LITJENS, N. 2010 *Circulating pro-inflammatory CD4posCD28null T cells are independently associated with cardiovascular disease in ESRD patients*. Nephrology Dialysis Transplantation. 3640–3646  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20400452/>  
URN: DOI: 10.1093/ndt/gfq203  
URN: PubMed ID: 20400452
- 176 BETJES, M.; HUISMAN, M.; WEIMAR, W.; LITJENS, N. 2008 *Expansion of cytolytic CD4+CD28- T cells in end-stage renal disease*. Kidney International. 760–767  
URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0085253815534108>  
URN: DOI: 10.1038/ki.2008.301

- 177 KUSZTAL, M.; KOSMACZEWSKA, A.; MAGOTT-PROCELEWSKA, M.; FRYDECKA, I.; CISZAK, L.; BOCKO, D.; PATRZALEK, D.; KLINGER, M. 2008 *CD28 downregulation on CD4+ T cells is associated with age of kidney transplant recipient*. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*. 661–668  
URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1432-2277.2008.00663.x>  
URN: DOI: 10.1111/j.1432-2277.2008.00663.x  
URN: PubMed ID: 18346013
- 178 RIZZELLO, V.; LIUZZO, G.; BRUGALETTA, S.; REBUZZI, A.; BIASUCCI, L.; CREA, F. 2006 *Modulation of CD4+CD28null T Lymphocytes by Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Blockade in Patients With Unstable Angina*. *Circulation*. 2272–2277  
URL:  
[https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.588533?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%20%200pubmed](https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.588533?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200pubmed)  
URN: DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.588533
- 179 BRYL, E.; VALLEJO, A.; MATTESON, E.; WITKOWSKI, J.; WEYAND, C.; GORONZY, J. 2005 *Modulation of CD28 expression with anti-tumor necrosis factor  $\alpha$  therapy in rheumatoid arthritis*. *Arthritis & Rheumatism*. 2996–3003  
URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/art.21353>  
URN: DOI: 10.1002/art.21353
- 180 BRYL, E.; VALLEJO, A.; WEYAND, C.; GORONZY, J. 2001 *Down-regulation of CD28 expression by TNF- $\alpha$* . *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 3231–3238  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11544310/>  
URN: DOI: 10.4049/jimmunol.167.6.3231  
URN: PubMed ID: 11544310
- 181 FAGIOLO, U.; COSSARIZZA, A.; SCALA, E.; FANALES-BELASIO, E.; ORTOLANI, C.; COZZI, E.; MONTI, D.; FRANCESCHI, C.; PAGANELLI, R. 1993 *Increased cytokine production in mononuclear cells of healthy elderly people*. *European journal of immunology*. 2375–2378  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8370415/>  
URN: DOI: 10.1002/eji.1830230950  
URN: PubMed ID: 8370415
- 182 LANGE, T.; BORN, J.; WESTERMANN, J. 2019 *Sleep Matters: CD4(+) T Cell Memory Formation and the Central Nervous System*. *Trends in immunology*. 674–686  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31262652/>  
URN: DOI: 10.1016/j.it.2019.06.003  
URN: PubMed ID: 31262652
- 183 IBEGBU, C.; XU, Y.-X.; FILLOS, D.; RADZIEWICZ, H.; GRAKOU, A.; KOURTIS, A. 2009 *Differential expression of CD26 on virus-specific CD8(+) T cells during active, latent and resolved infection*. *Immunology*. 346–353  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2669815/>  
URN: DOI: 10.1111/j.1365-2567.2008.02899.x  
URN: PMCID: PMC2669815  
URN: PubMed ID: 18657205
- 184 MATTEUCCI, E.; GHIMENTI, M.; DI BEO, S.; GIAMPIETRO, O. 2011 *Altered Proportions of Naïve, Central Memory and Terminally Differentiated Central Memory Subsets among CD4+ and CD8+ T Cells Expressing CD26 in Patients with Type 1 Diabetes*. *Journal of Clinical Immunology*. 977–984  
URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10875-011-9573-z>  
URN: DOI: 10.1007/s10875-011-9573-z
- 185 FRÖHLICH, M. (2018) *Die Bedeutung von CD28 vermittelter Kostimulation für CD8 T-Zell-Gedächtnisreaktionen*, Doctoralthesis. Universität Würzburg
- 186 BOESTEANU, A.; KATSIKIS, P. 2009 *Memory T cells need CD28 costimulation to remember*. *Seminars in immunology*. 69–77  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2923542/>

URN: DOI: 10.1016/j.smim.2009.02.005

URN: PMCID: PMC2923542

URN: PubMed ID: 19268606

187 NDEJEMBI, M.; TEIJARO, J.; PATKE, D.; BINGAMAN, A.; CHANDOK, M.; AZIMZADEH, A.; NADLER, S.; FARBER, D. 2007 *Control of Memory CD4 T Cell Recall by the CD28/B7 Costimulatory Pathway*. Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950). 7698–7706

URL:

[https://www.researchgate.net/publication/6684287\\_Control\\_of\\_Memory\\_CD4\\_T\\_Cell\\_Recall\\_by\\_the\\_CD28B7\\_Costimulatory\\_Pathway](https://www.researchgate.net/publication/6684287_Control_of_Memory_CD4_T_Cell_Recall_by_the_CD28B7_Costimulatory_Pathway)

URN: DOI: 10.4049/jimmunol.177.11.7698

188 KELSCH, R.; WEBER, D. 2010 *Immunologische Verträglichkeitsdiagnostik bei der Nierentransplantation: ein Update*. Transplantationsmedizin. 111–116

URL: <http://docplayer.org/11432406-Immunologische-vertraeglichkeitsdiagnostik-bei-der-nierentransplantation-ein-update.html>

189 TAKEMOTO, S.; TERASAKI, P.; GJERTSON, D.; CECKA, J. 2000 *Twelve Years' Experience with National Sharing of HLA-Matched Cadaveric Kidneys for Transplantation*. The New England journal of medicine. 1078–1084

URL: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM200010123431504>

URN: DOI: 10.1056/NEJM200010123431504

190 BERDEL, H. (2014) *Der Einfluss von Faktoren der Organspendeprozedur auf Transplantat- und Patientenüberleben bei der Nierentransplantation unter besonderer Berücksichtigung immunologischer Aspekte*. Medizinischen Fakultät Charité Universitätsmedizin Berlin

191 HELD, P.; KAHAN, B.; HUNSICKER, L.; LISKA, D.; WOLFE, R.; PORT, F.; GAYLIN, D.; GARCIA, J.; AGODOA, L.; KRAKAUER, H. 1994 *The impact of HLA mismatches on the survival of first cadaveric kidney transplants*. The New England journal of medicine. 765–770

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8065404>

URN: DOI: 10.1056/NEJM199409223311203

URN: PubMed ID: 8065404

192 GILLICH, M.; HEIMBACH, D.; SCHOENEICH, G.; MÜLLER, S.; KLEHR, H. 2002 *Comparison of blood group versus HLA-dependent transplantation and its influence on donor kidney survival*. Nephrology Dialysis Transplantation. 884–886

URL: <https://europepmc.org/article/MED/11981078>

URN: DOI: 10.1093/ndt/17.5.884

193 TERASAKI, P.; CECKA, J.; GJERTSON, D.; TAKEMOTO, S. 1995 *High survival rates of kidney transplants from spousal and living unrelated donors*. The New England journal of medicine. 333–336

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7609748/>

URN: DOI: 10.1056/NEJM199508103330601

URN: PubMed ID: 7609748

194 ASDERAKIS, A.; AUGUSTINE, T.; DYER, P.; SHORT, C.; CAMPBELL, B.; PARROTT, N.; JOHNSON, R. 1998 *Pre-emptive kidney transplantation: the attractive alternative*. Nephrology Dialysis Transplantation. 1799–1803

URL: [https://www.researchgate.net/publication/13602886\\_Pre-emptive\\_Kidney\\_Transplantation\\_the\\_attractive\\_alternative](https://www.researchgate.net/publication/13602886_Pre-emptive_Kidney_Transplantation_the_attractive_alternative)

URN: DOI: 10.1093/ndt/13.7.1799

URN: PubMed ID: 9681731

195 MANGE, K.; WEIR, M. 2003 *Preemptive Renal Transplantation: Why Not?* American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 1336–1340

URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1600-6143.2003.00232.X>

URN: DOI: 10.1046/j.1600-6143.2003.00232.X

- 196 WITCZAK, B.; LEIVESTAD, T.; LINE, P.-D.; HOLDAAS, H.; REISÆTER, A.; JENSSEN, T.; MIDTVEDT, K.; BITTER, J.; HARTMANN, A. 2009 *Experience From an Active Preemptive Kidney Transplantation Program-809 Cases Revisited*. *Transplantation*. 672–677  
 URL: [https://www.researchgate.net/publication/26799842\\_Experience\\_From\\_an\\_Active\\_Preemptive\\_Kidney\\_Transplantation\\_Program-809\\_Cases\\_Revisited](https://www.researchgate.net/publication/26799842_Experience_From_an_Active_Preemptive_Kidney_Transplantation_Program-809_Cases_Revisited)  
 URN: DOI: 10.1097/TP.0b013e3181b27b7e
- 197 INNOCENTI, G.; WADEI, H.; PRIETO, M.; DEAN, P.; RAMOS, E.; TEXTOR, S.; KHAMASH, H.; LARSON, T.; COSIO, F.; KOSBERG, K.; FIX, L.; BAUER, C.; STEGALL, M. 2007 *Preemptive living donor kidney transplantation: do the benefits extend to all recipients?* *Transplantation*. 144–149  
 URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17264810/>  
 URN: DOI: 10.1097/01.tp.0000250555.46539.65  
 URN: PubMed ID: 17264810
- 198 PAPALOIS, V.; MOSS, A.; GILLINGHAM, K.; SUTHERLAND, D.; MATAS, A.; HUMAR, A. 2000 *PRE-EMPTIVE TRANSPLANTS FOR PATIENTS WITH RENAL FAILURE: An Argument Against Waiting Until Dialysis*. *Transplantation*  
 URL: [https://journals.lww.com/transplantjournal/Fulltext/2000/08270/PRE\\_EMPTIVE\\_TRANSPLANTS\\_FOR\\_PATIENTS\\_WITH\\_RENAL.16.aspx](https://journals.lww.com/transplantjournal/Fulltext/2000/08270/PRE_EMPTIVE_TRANSPLANTS_FOR_PATIENTS_WITH_RENAL.16.aspx)
- 199 ABRAMOWICZ, D.; HAZZAN, M.; MAGGIORE, U.; PERUZZI, L.; COCHAT, P.; OBERBAUER, R.; HALLER, M.; VAN BIESEN, W.; for the Descartes Working Group; BUDDE, K.; DUDLEY, C.; KLINGER, M.; PASCUAL, J.; SCHWARTZ, S.; VIKLICKY, O.; CANNATA, J.; COVIC, A.; DELVECCHIO, L.; ECKARDT, K.; FOUQUE, D.; FOX, J.; HEIMBURGER, O.; JAGER, K.; LINDLEY, E.; MARTI, A.; NAGLER, E.; SPASOVSKI, G.; TATTERSALL, J.; VANHOLDER, R.; WANNER, C.; WHEELER, D.; WITHERS, W.; WIECEK, A.; ZOCCALI, C. 2015 *Does pre-emptive transplantation versus post start of dialysis transplantation with a kidney from a living donor improve outcomes after transplantation? A systematic literature review and position statement by the Descartes Working Group and ERBP*. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 691–697  
 URL: <https://academic.oup.com/ndt/article/31/5/691/1751809>  
 URN: DOI: 10.1093/ndt/gfv378
- 200 KASISKE, B.; SNYDER, J.; MATAS, A.; ELLISON, M.; GILL, J.; KAUSZ, A. 2002 *Preemptive kidney transplantation: the advantage and the advantaged*. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 1358–1364  
 URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11961024/>  
 URN: DOI: 10.1097/01.asn.0000013295.11876.c9  
 URN: PubMed ID: 11961024
- 201 MORATH, C.; SCHFER, S.; SSAL, C. 2013 *Nierentransplantation: Immunologische Barrieren berwinden*. *Dtsch Arztebl International*. A-384-A-385  
 URL: <https://www.aerzteblatt.de/archiv/134989/Nierentransplantation-Immunologische-Barrieren-ueberwinden>
- 202 MUELLER, T. 2007 *Mechanisms of Action of Thymoglobulin*. *Transplantation*. S5-S10  
 URL: <https://journals.lww.com/transplantjournal/Pages/articleviewer.aspx?year=2007&issue=12151&article=00003&type=Fulltext>  
 URN: DOI: 10.1097/01.tp.0000295420.49063.b1
- 203 MOHTY, M. 2007 *Mechanisms of action of antithymocyte globulin: T-cell depletion and beyond*. *Leukemia*. 1387–1394  
 URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17410187>  
 URN: DOI: 10.1038/sj.leu.2404683  
 URN: PubMed ID: 17410187
- 204 TANG, Q.; LEUNG, J.; MELLI, K.; LAY, K.; CHUU, E.; LIU, W.; BLUESTONE, J.; KANG, S.-M.; PEDDI, V.; VINCENTI, F. 2012 *Altered balance between effector T cells and*

*FOXP3+HELIOS+ regulatory T cells after thymoglobulin induction in kidney transplant recipients.* Transplant International. 1257–1267

URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1432-2277.2012.01565.x>

URN: DOI: 10.1111/j.1432-2277.2012.01565.x

205 MACKALL, C.; FLEISHER, T.; BROWN, M.; ANDRICH, M.; CHEN, C.; FEUERSTEIN, I.; MAGRATH, I.; WEXLER, L.; DIMITROV, D.; GRESS, R. 1997 *Distinctions Between CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> T-Cell Regenerative Pathways Result in Prolonged T-Cell Subset Imbalance After Intensive Chemotherapy.* Blood. 3700–3707

URL:

[https://www.researchgate.net/publication/14057303\\_Distinctions\\_Between\\_CD8\\_and\\_CD4\\_T-Cell\\_Regenerative\\_Pathways\\_Result\\_in\\_Prolonged\\_T-Cell\\_Subset\\_Imbalance\\_After\\_Intensive\\_Chemotherapy](https://www.researchgate.net/publication/14057303_Distinctions_Between_CD8_and_CD4_T-Cell_Regenerative_Pathways_Result_in_Prolonged_T-Cell_Subset_Imbalance_After_Intensive_Chemotherapy)

URN: DOI: 10.1182/blood.V89.10.3700.3700\_3700\_3707

206 XIA, C.-Q.; CHERNATYNSKAYA, A.; WASSERFALL, C.; WAN, S.; LOONEY, B.; EISENBEIS, S.; WILLIAMS, J.; CLARE-SALZLER, M.; ATKINSON, M. 2012 *Anti-thymocyte globulin (ATG) differentially depletes naive and memory T cells and permits memory-type regulatory T cells in nonobese diabetic mice.* BMC immunology. 70

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3547787/>

URN: DOI: 10.1186/1471-2172-13-70

URN: PMCID: PMC3547787

URN: PubMed ID: 23237483

207 HEITGER, A.; WINKLEHNER, P.; OBEXER, P.; EDER, J.; ZELLE-RIESER, C.; KROPSHOFER, G.; THURNHER, M.; HOLTER, W. 2002 *Defective T-helper cell function after T-cell-depleting therapy affecting naive and memory populations.* Blood. 4053–4062

URL: [https://www.researchgate.net/publication/11360348\\_Defective\\_T-helper\\_cell\\_function\\_after\\_T-cell-depleting\\_therapy\\_affecting\\_naive\\_and\\_memory\\_populations?enrichId=rgreq-a6bc7dfdcb7b99d67518c832c7362804-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzExMzYyMzQ0OFT0jk5Njg0MDQ3NjU0OTI2QDE0MDA3Nzc5Mzc5MjQ%3D&el=1\\_x\\_3&\\_esc=publicationCoverPdf](https://www.researchgate.net/publication/11360348_Defective_T-helper_cell_function_after_T-cell-depleting_therapy_affecting_naive_and_memory_populations?enrichId=rgreq-a6bc7dfdcb7b99d67518c832c7362804-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzExMzYyMzQ0OFT0jk5Njg0MDQ3NjU0OTI2QDE0MDA3Nzc5Mzc5MjQ%3D&el=1_x_3&_esc=publicationCoverPdf)

URN: DOI: 10.1182/blood.V99.11.4053

URN: PMCID: PMC3547787

URN: PubMed ID: 23237483

208 NA, I.-K.; WITTENBECHER, F.; DZIUBIANAU, M.; HERHOLZ, A.; MENSEN, A.; KUNKEL, D.; BLAU, O.; BLAU, I.; THIEL, E.; UHAREK, L.; SCHEIBENBOGEN, C.; RIEGER, K.; THIEL, A. 2013 *Rabbit antithymocyte globulin (thymoglobulin) impairs the thymic output of both conventional and regulatory CD4<sup>+</sup> T cells after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adult patients.* Haematologica. 23–30

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22801968/>

URN: DOI: 10.3324/haematol.2012.067611

URN: PMCID: PMC3533656

URN: PubMed ID: 22801968

209 RUZEK, M.; WAIRE, J.; HOPKINS, D.; LACORCIA, G.; SULLIVAN, J.; ROBERTS, B.; RICHARDS, S.; NAHILL, S.; WILLIAMS, J.; SCARIA, A.; DZURIS, J.; SHANKARA, S.; GARMAN, R. 2008 *Characterization of in vitro antimurine thymocyte globulin-induced regulatory T cells that inhibit graft-versus-host disease in vivo.* Blood. 1726–1734

URL:

[https://www.researchgate.net/publication/5822374\\_Characterization\\_of\\_in\\_vitro\\_antimurine\\_thymocyte\\_globulin-induced\\_regulatory\\_T\\_cells\\_that\\_inhibit\\_graft-versus-host\\_disease\\_in\\_vivo/citation/download](https://www.researchgate.net/publication/5822374_Characterization_of_in_vitro_antimurine_thymocyte_globulin-induced_regulatory_T_cells_that_inhibit_graft-versus-host_disease_in_vivo/citation/download)

URN: DOI: 10.1182/blood-2007-08-106526

210 DUFTNER, C.; DEJACO, C.; HENGSTER, P.; BIJUKLIC, K.; JOANNIDIS, M.; MARGREITER, R.; SCHIRMER, M. 2012 *Apoptotic effects of antilymphocyte globulins on human pro-inflammatory CD4<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T-cells.* PloS one. e33939

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3316508/>

URN: DOI: 10.1371/journal.pone.0033939

URN: PMCID: PMC3316508

URN: PubMed ID: 22479483

211 WEIMER, R.; STAAK, A.; SÜSAL, C.; STRELLER, S.; YILDIZ, S.; PELZL, S.; RENNER, F.; DIETRICH, H.; DANIEL, V.; RAINER, L.; KAMALI-ERNST, S.; ERNST, W.; PADBERG, W.; OPELZ, G. 2005 *ATG induction therapy: long-term effects on Th1 but not on Th2 responses*. *Transplant International*. 226–236

URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1432-2277.2004.00047.x>

URN: DOI: 10.1111/j.1432-2277.2004.00047.x

212 LIU, J.; XU, L.-P.; BIAN, Z.; CHANG, Y.-J.; WANG, Y.; ZHANG, X.-H.; HUANG, X.-J. 2015 *Differential impact of two doses of antithymocyte globulin conditioning on lymphocyte recovery upon haploidentical hematopoietic stem cell transplantation*. *Journal of translational medicine*. 391

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4696105/>

URN: DOI: 10.1186/s12967-015-0748-x

URN: PMCID: PMC4696105

URN: PubMed ID: 26715367

213 MARCO, M.; DONS, E.; van der Windt, D J; BHAMA, J.; LU, L.; ZAHORCHAK, A.; LAKKIS, F.; COOPER, D.; EZZELARAB, M.; THOMSON, A. 2013 *Post-transplant repopulation of naïve and memory T cells in blood and lymphoid tissue after alemtuzumab-mediated depletion in heart-transplanted cynomolgus monkeys*. *Transplant immunology*. 88–98

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24120957>

URN: DOI: 10.1016/j.trim.2013.10.002

URN: PMCID: PMC3850214

URN: PubMed ID: 24120957

214 PAGE, A.; FORD, M.; KIRK, A. 2009 *Memory T-cell-specific therapeutics in organ transplantation*. *Current opinion in organ transplantation*. 643–649

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2833266/>

URN: DOI: 10.1097/MOT.0b013e328332bd4a

URN: PMCID: PMC2833266

URN: PubMed ID: 19779342

215 KOYAMA, I.; NADAZDIN, O.; BOSKOVIC, S.; OCHIAI, T.; SMITH, R.; SYKES, M.; SOGAWA, H.; MURAKAMI, T.; STROM, T.; COLVIN, R.; SACHS, D.; BENICHO, G.; COSIMI, A.; KAWAI, T. 2007 *Depletion of CD8 memory T cells for induction of tolerance of a previously transplanted kidney allograft*. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 1055–1061

URN: DOI: 10.1111/j.1600-6143.2006.01703.x

URN: PMCID: PMC3785402

URN: PubMed ID: 17286617

216 PEARL, J.; PARRIS, J.; HALE, D.; HOFFMANN, S.; BERNSTEIN, W.; MCCOY, K.; SWANSON, S.; MANNON, R.; ROEDERER, M.; KIRK, A. 2005 *Immunocompetent T-cells with a memory-like phenotype are the dominant cell type following antibody-mediated T-cell depletion*. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 465–474

URL: <https://scholars.duke.edu/display/pub1055024>

URN: DOI: 10.1111/j.1600-6143.2005.00759.x

URN: PubMed ID: 15707400

217 NEUJAHN, D.; CHEN, C.; HUANG, X.; MARKMANN, J.; COBBOLD, S.; WALDMANN, H.; SAYEGH, M.; HANCOCK, W.; TURKA, L. 2006 *Accelerated Memory Cell Homeostasis during T Cell Depletion and Approaches to Overcome It*. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 4632–4639

URL:

[https://www.researchgate.net/publication/7193694\\_Accelerated\\_Memory\\_Cell\\_Homeostasis\\_du](https://www.researchgate.net/publication/7193694_Accelerated_Memory_Cell_Homeostasis_du)

ring\_T\_Cell\_Depletion\_and\_Approaches\_to\_Overcome\_It

URN: DOI: 10.4049/jimmunol.176.8.4632

218 KROEMER, A.; XIAO, X.; VU, M.; GAO, W.; MINAMIMURA, K.; CHEN, M.; MAKI, T.; LI, X. 2007 *OX40 Controls Functionally Different T Cell Subsets and Their Resistance to Depletion Therapy*. Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950). 5584–5591

URL:

[https://www.researchgate.net/publication/5932649\\_OX40\\_Controls\\_Functionally\\_Different\\_T\\_Cell\\_Subsets\\_and\\_Their\\_Resistance\\_to\\_Depletion\\_Therapy](https://www.researchgate.net/publication/5932649_OX40_Controls_Functionally_Different_T_Cell_Subsets_and_Their_Resistance_to_Depletion_Therapy)

URN: DOI: 10.4049/jimmunol.179.8.5584

219 SENER, A.; TANG, A.; FARBER, D. 2009 *Memory T-cell predominance following T-cell depletion therapy derives from homeostatic expansion of naive T cells*. American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 2615–2623

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19775313>

URN: DOI: 10.1111/j.1600-6143.2009.02820.x

URN: PubMed ID: 19775313

220 AYASOUFI, K.; YU, H.; FAN, R.; WANG, X.; WILLIAMS, J.; VALUJSKIKH, A. 2013 *Pretransplant antithymocyte globulin has increased efficacy in controlling donor-reactive memory T cells in mice*. American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 589–599

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23331999/>

URN: DOI: 10.1111/ajt.12068

URN: PMCID: PMC4014010

URN: PubMed ID: 23331999

221 WITTENBECHER, F.; RIEGER, K.; DZIUBIANAU, M.; HERHOLZ, A.; MENSEN, A.; BLAU, I.; UHAREK, L.; DÖRKEN, B.; THIEL, A.; NA, I.-K. 2013 *Rabbit antithymocyte globulin induces rapid expansion of effector memory CD8 T cells without accelerating acute graft versus host disease*. Leukemia research reports. 82–85

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3850384/>

URN: DOI: 10.1016/j.lrr.2013.09.001

URN: PMCID: PMC3850384

URN: PubMed ID: 24371789

222 ZHAI, W.; JUNGRAITHMAYR, W.; MEESTER, I. de; INCI, I.; AUGUSTYNS, K.; ARNI, S.; HILLINGER, S.; SCHARPÉ, S.; WEDER, W.; KOROM, S. 2009 *Primary graft dysfunction in lung transplantation: the role of CD26/dipeptidylpeptidase IV and vasoactive intestinal peptide*. Transplantation. 1140–1146

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19384159>

URN: DOI: 10.1097/TP.0b013e31819e04c3

URN: PubMed ID: 19384159

223 CHAUMONT, M.; RACAPÉ, J.; BROEDERS, N.; EL MOUNTAHI, F.; MASSART, A.; BAUDOUX, T.; HOUGARDY, J.-M.; MIKHALSKY, D.; HAMADE, A.; LE MOINE, A.; ABRAMOWICZ, D.; VEREERSTRAETEN, P. 2015 *Delayed Graft Function in Kidney Transplants: Time Evolution, Role of Acute Rejection, Risk Factors, and Impact on Patient and Graft Outcome*. Journal of transplantation. 163757

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4581567/>

URN: DOI: 10.1155/2015/163757

URN: PMCID: PMC4581567

URN: PubMed ID: 26448870

224 PIETRONI, V.; TOSCANO, A.; CITTERIO, F. *Donor-Specific Antibody in Solid Organ Transplantation: Where are We?*

225 LEE, P.-C.; ZHU, L.; TERASAKI, P.; EVERLY, M. 2009 *HLA-Specific Antibodies Developed in the First Year Posttransplant are Predictive of Chronic Rejection and Renal Graft Loss*. Transplantation. 568–574

URL: [https://www.researchgate.net/publication/26757090\\_HLA-](https://www.researchgate.net/publication/26757090_HLA-)

Specific\_Antibodies\_Developed\_in\_the\_First\_Year\_Posttransplant\_are\_Predictive\_of\_Chronic\_Rejection\_and\_Renal\_Graft\_Loss

URN: DOI: 10.1097/TP.0b013e3181b11b72

226 SHIPKOVA, M.; KRIZAN, E.; KLETT, C.; LEICHT, S.; WIELAND, E. 2009 *Effect of immunosuppressants on CD26/dipeptidyl peptidase IV expression on CD3 in vitro*. *Ther Drug Monit*

URL:

[https://www.researchgate.net/publication/281595969\\_Effect\\_of\\_immunosuppressants\\_on\\_CD26dipeptidyl\\_peptidase\\_IV\\_expression\\_on\\_CD3\\_in\\_vitro](https://www.researchgate.net/publication/281595969_Effect_of_immunosuppressants_on_CD26dipeptidyl_peptidase_IV_expression_on_CD3_in_vitro)

227 LLINÀS-MALLOL, L.; REDONDO-PACHÓN, D.; PÉREZ-SÁEZ, M.; RAÏCH-REGUÉ, D.; MIR, M.; YÉLAMOS, J.; LÓPEZ-BOTET, M.; PASCUAL, J.; CRESPO, M. 2019 *Peripheral blood lymphocyte subsets change after steroid withdrawal in renal allograft recipients: a prospective study*. *Scientific Reports*. 7453

URL: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-42913-4>

URN: DOI: 10.1038/s41598-019-42913-4

228 PRIYADHARSHINI, B.; GREINER, D.; BREHM, M. 2012 *T-cell activation and transplantation tolerance*. *Transplantation reviews (Orlando, Fla.)*. 212–222

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3294261/>

URN: DOI: 10.1016/j.trre.2011.09.002

URN: PMCID: PMC3294261

URN: PubMed ID: 22074786

229 WIELAND, E.; SHIPKOVA, M.; MARTIUS, Y.; HASCHKE, G.; KLETT, C.; BOLLEY, R.; OLBRICHT, C. 2011 *Association Between Pharmacodynamic Biomarkers and Clinical Events in the Early Phase After Kidney Transplantation: A Single-Center Pilot Study*. *Therapeutic drug monitoring*. 341–349

URL:

[https://www.researchgate.net/publication/51073084\\_Association\\_Between\\_Pharmacodynamic\\_Biomarkers\\_and\\_Clinical\\_Events\\_in\\_the\\_Early\\_Phase\\_After\\_Kidney\\_Transplantation\\_A\\_Single-Center\\_Pilot\\_Study](https://www.researchgate.net/publication/51073084_Association_Between_Pharmacodynamic_Biomarkers_and_Clinical_Events_in_the_Early_Phase_After_Kidney_Transplantation_A_Single-Center_Pilot_Study)

URN: DOI: 10.1097/FTD.0b013e3182188675

230 KUBOTA, T.; FLENTKE, G.; BACHOVCHIN, W.; STOLLAR, B. 1992 *Involvement of dipeptidyl peptidase IV in an in vivo immune response*. *Clinical and experimental immunology*. 192–197

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1554421/>

URN: DOI: 10.1111/j.1365-2249.1992.tb06931.x

URN: PMCID: PMC1554421

URN: PubMed ID: 1353423

231 KOROM, S.; MEESTER, I. de; STADLBAUER, T.; CHANDRAKER, A.; SCHAUB, M.; SAYEGH, M.; BELYAEV, A.; HAEMERS, A.; SCHARPÉ, S.; KUPIEC-WEGLINSKI, J. 1997 *Inhibition of CD26/dipeptidyl peptidase IV activity in vivo prolongs cardiac allograft survival in rat recipients*. *Transplantation*. 1495–1500

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9175816/>

URN: DOI: 10.1097/00007890-199705270-00021

URN: PubMed ID: 9175816

232 JUNGRAITHMAYR, W.; ENZ, N. 2018 *CD26 – The emerging role of a costimulatory molecule in allograft rejection*. *Cellular & molecular immunology*

URL: <https://www.nature.com/articles/s41423-018-0028-9#citeas>

URN: DOI: 10.1038/s41423-018-0028-9

233 STROBEL, S. (2018) *CD 26 als prädiktiver Marker für die Abstoßung bei Patienten in der späteren Phase nach Nierentransplantation*, Dissertation. Eberhard Karls Universität Tübingen

234 TAN, P.; ANASETTI, C.; HANSEN, J.; MELROSE, J.; BRUNVAND, M.; BRADSHAW, J.; LEDBETTER, J.; LINSLEY, P. 1993 *Induction of alloantigen-specific hyporesponsiveness in*



*human T lymphocytes by blocking interaction of CD28 with its natural ligand B7/BB1*. Journal of Experimental Medicine. 165–173

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2190874/>

URN: DOI: 10.1084/jem.177.1.165

URN: PMCID: PMC2190874

URN: PubMed ID: 7678111

235 YAMADA, A.; KISHIMOTO, K.; DONG, V.; SHO, M.; SALAMA, A.; ANOSOVA, N.; BENICHO, G.; MANDELROT, D.; SHARPE, A.; TURKA, L.; AUCHINCLOSS, H., JR; SAYEGH, M. 2001 *CD28-independent costimulation of T cells in alloimmune responses*.

Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950). 140–146

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11418642/>

URN: DOI: 10.4049/jimmunol.167.1.140

URN: PubMed ID: 11418642

236 FORD, M. 2016 *T Cell Cosignaling Molecules in Transplantation*. Immunity. 1020–1033

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5260013/>

URN: DOI: 10.1016/j.immuni.2016.04.012

URN: PMCID: PMC5260013

URN: PubMed ID: 27192567

237 DEDEOGLU, B.; MEIJERS, R.; KLEPPER, M.; HESSELINK, D.; BAAN, C.; LITJENS, N.; BETJES, M. 2016 *Loss of CD28 on Peripheral T Cells Decreases the Risk for Early Acute Rejection after Kidney Transplantation*. PloS one. e0150826

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4780739/>

URN: DOI: 10.1371/journal.pone.0150826

URN: PMCID: PMC4780739

URN: PubMed ID: 26950734

238 BOIX, F.; BOLARÍN, J.; EGUÍA, J.; GONZALEZ-MARTINEZ, G.; LA PEÑA, J. de; GALIAN, J.; HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, A.; MOYA-QUILES, M.; LEGAZ, I.; CAMPILLO, J.; RAMIREZ, P.; SANCHEZ-BUENO, F.; GARCÍA-ALONSO, A.; PONS, J.; MINGUELA, A.; LLORENTE, S.; MURO, M. 2016 *Pretransplant CD28 Biomarker (Levels of Expression and Quantification of Molecules per Cell) in Peripheral CD4(+) T Cells Predicts Acute Rejection Episodes in Liver and Kidney Recipients*. Transplantation Proceedings. 2987–2989

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27932126/>

URN: DOI: 10.1016/j.transproceed.2016.09.028

URN: PubMed ID: 27932126

239 BAETEN, D.; LOUIS, S.; BRAUD, C.; BRAUDEAU, C.; BALLE, C.; MOIZANT, F.; PALLIER, A.; GIRAL, M.; BROUARD, S.; SOULILLOU, J.-P. 2006 *Phenotypically and functionally distinct CD8+ lymphocyte populations in long-term drug-free tolerance and chronic rejection in human kidney graft recipients*. Journal of the American Society of Nephrology : JASN. 294–304

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16338967/>

URN: DOI: 10.1681/ASN.2005020178

URN: PubMed ID: 16338967

240 TRZONKOWSKI, P.; ZILVETTI, M.; CHAPMAN, S.; WIĘCKIEWICZ, J.; SUTHERLAND, A.; FRIEND, P.; WOOD, K. 2008 *Homeostatic Repopulation by CD28-CD8+ T Cells in Alemtuzumab-Depleted Kidney Transplant Recipients Treated With Reduced Immunosuppression*. American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 338–347

URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1600-6143.2007.02078.x>

URN: DOI: 10.1111/j.1600-6143.2007.02078.x

241 PAWLIK, A.; FLORCZAK, M.; MASIUK, M.; DUTKIEWICZ, G.; MACHALINSKI, B.; ROZANSKI, J.; DOMANSKI, L.; GAWROŃSKA-SZKLARZ, B. 2003 *The expansion of CD4+CD28- T cells in patients with chronic kidney graft rejection*. Transplantation Proceedings. 2902–2904

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14697933/>

URN: DOI: 10.1016/j.transproceed.2003.10.061

URN: PubMed ID: 14697933

242 BATTOCHIO, A.; SOLEZ, K.; POPPEMA, S.; COCKFIELD, S.; & RAYNER, D. 1996 *CD45 isoforms and lymphocyte activation antigens in acute renal allograft rejection.*

Transplantation Proceedings. 482–483

URN: PubMed ID: 8644320

243 IBRAHIM, S.; DAWSON, D.; SANFILIPPO, F. 1995 *PREDOMINANT INFILTRATION OF REJECTING HUMAN RENAL ALLOGRAFTS WITH T CELLS EXPRESSING CD8 AND CD45RO.* Transplantation

URL:

[https://journals.lww.com/transplantjournal/Fulltext/1995/03150/PREDOMINANT\\_INFILTRATION\\_OF\\_REJECTING\\_HUMAN\\_RENAL.15.aspx](https://journals.lww.com/transplantjournal/Fulltext/1995/03150/PREDOMINANT_INFILTRATION_OF_REJECTING_HUMAN_RENAL.15.aspx)

244 MATHEWS, D.; WAKWE, W.; KIM, S.; LOWE, M.; BREEDEN, C.; ROBERTS, M.; FARRIS, A.; STROBERT, E.; JENKINS, J.; LARSEN, C.; FORD, M.; TOWNSEND, R.; ADAMS, A. 2017 *Belatacept-Resistant Rejection Is Associated With CD28(+) Memory CD8 T Cells.*

American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 2285–2299

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28502128/>

URN: DOI: 10.1111/ajt.14349

URN: PMCID: PMC5573634

URN: PubMed ID: 28502128

245 TRAITANON, O.; GORBACHEV, A.; BECHTEL, J.; KESLAR, K.; BALDWIN III, W.; POGGIO, E.; FAIRCHILD, R. 2014 *IL-15 Induces Alloreactive CD28- Memory CD8 T Cell Proliferation and CTLA4-Ig Resistant Memory CD8 T Cell Activation.* American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 1277–1289

URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ajt.12719>

URN: DOI: 10.1111/ajt.12719

246 KRUPNICK, A.; LIN, X.; LI, W.; HIGASHIKUBO, R.; ZINSELMAYER, B.; HARTZLER, H.; TOTH, K.; RITTER, J.; BEREZIN, M.; WANG, S.; MILLER, M.; GELMAN, A.; KREISEL, D. 2014 *Central memory CD8+ T lymphocytes mediate lung allograft acceptance.* The Journal of clinical investigation. 1130–1143

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3938255/>

URN: DOI: 10.1172/JCI71359

URN: PMCID: PMC3938255

URN: PubMed ID: 24569377

247 SÖDERHOLM, J.; WALDENSTRÖM, J.; ASKARIEH, G.; PILLI, M.; BOCHUD, P.-Y.; NEGRO, F.; PAWLOTSKY, J.-M.; ZEUZEM, S.; FERRARI, C.; NORKRANS, G.; WEJSTÅL, R.; WESTIN, J.; NEUMANN, A.; HAAGMANS, B.; LINDH, M.; MISSALE, G.; HELLSTRAND, K.; LAGGING, M. 2013 *Impact of soluble CD26 on treatment outcome and hepatitis C virus-specific T cells in chronic hepatitis C virus genotype 1 infection.* PloS one. e56991

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3577643/>

URN: DOI: 10.1371/journal.pone.0056991

URN: PMCID: PMC3577643

URN: PubMed ID: 23437290

248 DOURADO, M.; ALVES, V.; MESQUITA, L.; RAMOS, I.; PINTO, A.; ROSA, M. 2004 *CD26/DPP4 and response to hepatitis B vaccination.* Pathophysiology. 147–152

URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092846800400080X>

URN: DOI: 10.1016/j.pathophys.2004.06.002

249 CÀI, Y.; YÚ, S.; POSTNIKOVA, E.; MAZUR, S.; BERNBAUM, J.; BURK, R.; ZHĀNG, T.; RADOSHITZKY, S.; MÜLLER, M.; JORDAN, I.; BOLLINGER, L.; HENSLEY, L.; JÄHRLING, P.; KUHN, J. 2014 *CD26/DPP4 cell-surface expression in bat cells correlates with bat cell susceptibility to Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection and evolution of persistent infection.* PloS one. e112060

- URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4237331/>  
URN: DOI: 10.1371/journal.pone.0112060  
URN: PMCID: PMC4237331  
URN: PubMed ID: 25409519
- 250 ESSA, S.; PACSA, A.; RAGHUPATHY, R.; AL-ATTIYAH, R.; EL-SHAZLY, A.; SAID, T. 2002 *CD4(+) T cell levels are decreased during active CMV infection in kidney transplant recipients*. *FEMS immunology and medical microbiology*. 17–22  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12208602/>  
URN: DOI: 10.1111/j.1574-695X.2002.tb00598.x  
URN: PubMed ID: 12208602
- 251 NESBURN, A.; SRIVASTAVA, R.; KHAN, A.; WECHSLER, S.; BENMOHAMED, L. 2016 *Increased Frequency of Herpes Simplex Virus-Specific Effector Memory CD26+CD8+ T Cells in HSV-Seropositive Ocular Herpes Asymptomatic Patients*. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 3318  
URL: <https://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2561605>
- 252 SCHMIDT, D.; GORONZY, J.; WEYAND, C. 1996 *CD4+ CD7- CD28- T cells are expanded in rheumatoid arthritis and are characterized by autoreactivity*. *The Journal of clinical investigation*. 2027–2037  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC507276/>  
URN: DOI: 10.1172/JCI118638  
URN: PMCID: PMC507276  
URN: PubMed ID: 8621791
- 253 SUN, Z.; ZHONG, W.; LU, X.; SHI, B.; ZHU, Y.; CHEN, L.; ZHANG, G.; ZHANG, X. 2008 *Association of Graves' Disease and Prevalence of Circulating IFN- $\gamma$ -producing CD28- T Cells*. *Journal of Clinical Immunology*. 464  
URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10875-008-9213-4>  
URN: DOI: 10.1007/s10875-008-9213-4
- 254 SCHIRMER, M.; GOLDBERGER, C.; WÜRZNER, R.; DUFTNER, C.; PFEIFFER, K.-P.; CLAUSEN, J.; NEUMAYR, G.; FALKENBACH, A. 2002 *Circulating cytotoxic CD8(+) CD28(-) T cells in ankylosing spondylitis*. *Arthritis research*. 71–76  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC64855/>  
URN: DOI: 10.1186/ar386  
URN: PMCID: PMC64855  
URN: PubMed ID: 11879540
- 255 KOMOCSI, A.; LAMPRECHT, P.; CSERNOK, E.; MUELLER, A.; HOLL-ULRICH, K.; SEITZER, U.; MOOSIG, F.; SCHNABEL, A.; GROSS, W. 2002 *Peripheral blood and granuloma CD4(+)CD28(-) T cells are a major source of interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha in Wegener's granulomatosis*. *The American journal of pathology*. 1717–1724  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1850873/>  
URN: DOI: 10.1016/s0002-9440(10)61118-2  
URN: PMCID: PMC1850873  
URN: PubMed ID: 12000723
- 256 BÜRGISSER, P.; HAMMANN, C.; KAUFMANN, D.; BATTEGAY, M.; RUTSCHMANN, O. 1999 *Expression of CD28 and CD38 by CD8+ T lymphocytes in HIV-1 infection correlates with markers of disease severity and changes towards normalization under treatment*. *The Swiss HIV Cohort Study*. *Clinical and experimental immunology*. 458–463  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1905235/>  
URN: DOI: 10.1046/j.1365-2249.1999.00818.x  
URN: PMCID: PMC1905235  
URN: PubMed ID: 10193418
- 257 CARUSO, A.; LICENZIATI, S.; CANARIS, A.; CANTALAMESSA, A.; FIORENTINI, S.; AUSENDA, S.; RICOTTA, D.; DIMA, F.; MALACARNE, F.; BALSARI, A.; TURANO, A. 1998 *Contribution of CD4+, CD8+CD28+, and CD8+CD28- T cells to CD3+ lymphocyte homeostasis during the natural course of HIV-1 infection*. *The Journal of clinical investigation*. 137–144

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC508549/>

URN: DOI: 10.1172/JCI195

URN: PMCID: PMC508549

URN: PubMed ID: 9421475

258 TRIMBLE, L.; SHANKAR, P.; PATTERSON, M.; DAILY, J.; LIEBERMAN, J. 2000 *Human immunodeficiency virus-specific circulating CD8 T lymphocytes have down-modulated CD3zeta and CD28, key signaling molecules for T-cell activation.* Journal of virology. 7320–7330

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC112252/>

URN: DOI: 10.1128/jvi.74.16.7320-7330.2000

URN: PMCID: PMC112252

URN: PubMed ID: 10906185

259 WALLACE, D.; MASTERS, J.; LARA, C. de; HENSON, S.; WORTH, A.; ZHANG, Y.; KUMAR, S.; BEVERLEY, P.; AKBAR, A.; MACALLAN, D. 2011 *Human cytomegalovirus-specific CD8(+) T-cell expansions contain long-lived cells that retain functional capacity in both young and elderly subjects.* Immunology. 27–38

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3015072/>

URN: DOI: 10.1111/j.1365-2567.2010.03334.x

URN: PMCID: PMC3015072

URN: PubMed ID: 20738423

260 PETROVA, M.; MUHTAROVA, M.; NIKOLOVA, M.; MAGAEV, S.; TASKOV, H.; NIKOLOVSKA, D.; KRASTEVA, Z. 2006 *Chronic Epstein-Barr virus-related hepatitis in immunocompetent patients.* World journal of gastroenterology. 5711–5716

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4088175/>

URN: DOI: 10.3748/wjg.v12.i35.5711

URN: PMCID: PMC4088175

URN: PubMed ID: 17007027

261 BURTON, C.; SESTER, M.; ROBINSON, J.; EURICH, D.; URSCHEL, S.; PREIKSAITIS, J. 2019 *CMV-specific T-cells and CD27-CD28-CD4+ T-cells for assignment of cytomegalovirus (CMV) status in adults awaiting organ transplant.* Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology. 37–42

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30959325/>

URN: DOI: 10.1016/j.jcv.2019.03.014

URN: PubMed ID: 30959325

262 NANDI, M.; PAL, S.; GHOSH, S.; CHAKRABORTY, B.; DEY, D.; BAIDYA, A.; SHIL, A.; CHATTOPADHYAYA, S.; BANERJEE, S.; SANTRA, A.; CHOWDHURY, A.; DATTA, S. 2019 *CD8(+)/CD28(-) T cells: key cytotoxic players impacting disease pathogenesis in chronic HBV infection.* Clinical science (London, England : 1979). 1917–1934

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31477625/>

URN: DOI: 10.1042/CS20190369

URN: PubMed ID: 31477625

263 LI, X.; KONG, H.; Li Tian; ZHU, Q.; WANG, Y.; DONG, Y.; NI, Q.; CHEN, Y. 2014 *Changes of costimulatory molecule CD28 on circulating CD8+ T cells correlate with disease pathogenesis of chronic hepatitis B.* BioMed research international. 423181

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4071789/>

URN: DOI: 10.1155/2014/423181

URN: PMCID: PMC4071789

URN: PubMed ID: 25013781

264 ISA, A.; KASPROWICZ, V.; NORBECK, O.; LOUGHRY, A.; JEFFERY, K.; BROLIDEN, K.; KLENERMAN, P.; TOLFVENSTAM, T.; BOWNESS, P. 2005 *Prolonged activation of virus-specific CD8+ T cells after acute B19 infection.* PLoS medicine. e343

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16253012/>

URN: DOI: 10.1371/journal.pmed.0020343

URN: PMCID: PMC1274280  
URN: PubMed ID: 16253012

265 ESENSTEN, J.; HELOU, Y.; CHOPRA, G.; WEISS, A.; BLUESTONE, J. 2016 *CD28 Costimulation: From Mechanism to Therapy*. *Immunity*. 973–988  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4932896/>  
URN: DOI: 10.1016/j.immuni.2016.04.020  
URN: PMCID: PMC4932896  
URN: PubMed ID: 27192564

266 WANG, L.; ZHAO, C.; PENG, Q.; SHI, J.; GU, G. 2014 *Expression levels of CD28, CTLA-4, PD-1 and Tim-3 as novel indicators of T-cell immune function in patients with chronic hepatitis B virus infection*. *Biomedical reports*. 270–274  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24649109/>  
URN: DOI: 10.3892/br.2014.217  
URN: PMCID: PMC3917748  
URN: PubMed ID: 24649109

267 TU, W.; RAO, S. 2016 *Mechanisms Underlying T Cell Immunosenescence: Aging and Cytomegalovirus Infection*. *Frontiers in microbiology*. 2111  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28082969/>  
URN: DOI: 10.3389/fmicb.2016.02111  
URN: PMCID: PMC5186782  
URN: PubMed ID: 28082969

268 LITJENS, N.; WIT, E. de; BETJES, M. 2011 *Differential effects of age, cytomegalovirus-seropositivity and end-stage renal disease (ESRD) on circulating T lymphocyte subsets*. *Immunity & ageing : I & A*. 2  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21214947/>  
URN: DOI: 10.1186/1742-4933-8-2  
URN: PMCID: PMC3024293  
URN: PubMed ID: 21214947

269 BORRA, L.; ROODNAT, J.; KAL, J.; MATHOT, R.; WEIMAR, W.; VAN GELDER, T. 2010 *High within-patient variability in the clearance of tacrolimus is a risk factor for poor long-term outcome after kidney transplantation*. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2757–2763  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20190242/>  
URN: DOI: 10.1093/ndt/gfq096  
URN: PubMed ID: 20190242

270 NIEDERMEIER, M.; REICH, B.; RODRIGUEZ GOMEZ, M.; DENZEL, A.; SCHMIDBAUER, K.; GÖBEL, N.; TALKE, Y.; SCHWEDA, F.; MACK, M. 2009 *CD4+ T cells control the differentiation of Gr1+ monocytes into fibrocytes*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 17892–17897  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2764893/>  
URN: DOI: 10.1073/pnas.0906070106  
URN: PMCID: PMC2764893  
URN: PubMed ID: 19815530

271 NISTALA, R.; SAVIN, V. 2017 *Diabetes, hypertension, and chronic kidney disease progression: role of DPP4*. *American journal of physiology. Renal physiology*. F661-F670  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28122713/>  
URN: DOI: 10.1152/ajprenal.00316.2016  
URN: PubMed ID: 28122713

272 PANCHAPAKESAN, U.; POLLOCK, C. 2015 *The Role of Dipeptidyl Peptidase - 4 Inhibitors in Diabetic Kidney Disease*. *Frontiers in Immunology*. 443  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4551869/>  
URN: DOI: 10.3389/fimmu.2015.00443  
URN: PMCID: PMC4551869  
URN: PubMed ID: 26379674

- 273 KANASAKI, K. 2018 *The role of renal dipeptidyl peptidase-4 in kidney disease: renal effects of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors with a focus on linagliptin*. Clinical science (London, England : 1979). 489–507  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29491123/>  
URN: DOI: 10.1042/CS20180031  
URN: PMCID: PMC5828949  
URN: PubMed ID: 29491123
- 274 STUDER, S.; GEORGE, M.; ZHU, X.; SONG, Y.; VALENTINE, V.; STONER, M.; SETHI, J.; STEELE, C.; DUNCAN, S. 2008 *CD28 down-regulation on CD4 T cells is a marker for graft dysfunction in lung transplant recipients*. American journal of respiratory and critical care medicine. 765–773  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2556458/>  
URN: DOI: 10.1164/rccm.200701-013OC  
URN: PMCID: PMC2556458  
URN: PubMed ID: 18617642
- 275 YAP, M.; BOEFFARD, F.; CLAVE, E.; PALLIER, A.; DANGER, R.; GIRAL, M.; DANTAL, J.; FOUCHER, Y.; GUILLOT-GUEGUEN, C.; TOUBERT, A.; SOULILLOU, J.-P.; BROUARD, S.; DEGAUQUE, N. 2014 *Expansion of highly differentiated cytotoxic terminally differentiated effector memory CD8+ T cells in a subset of clinically stable kidney transplant recipients: a potential marker for late graft dysfunction*. Journal of the American Society of Nephrology : JASN. 1856–1868  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4116064/>  
URN: DOI: 10.1681/ASN.2013080848  
URN: PMCID: PMC4116064  
URN: PubMed ID: 24652799
- 276 BAILEY, S.; NELSON, M.; MAJCHRZAK, K.; BOWERS, J.; WYATT, M.; SMITH, A.; NEAL, L.; SHIRAI, K.; CARPENITO, C.; JUNE, C.; ZILLIOX, M.; PAULO, C. 2017 *Human CD26(high) T cells elicit tumor immunity against multiple malignancies via enhanced migration and persistence*. Nature communications. 1961  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29213079/>  
URN: DOI: 10.1038/s41467-017-01867-9  
URN: PMCID: PMC5719008  
URN: PubMed ID: 29213079
- 277 NELSON, M.; KNOCHELMANN, H.; BAILEY, S.; HUFF, L.; BOWERS, J.; MAJCHRZAK-KULIGOWSKA, K.; WYATT, M.; RUBINSTEIN, M.; MEHROTRA, S.; NISHIMURA, M.; ARMESON, K.; GIRESI, P.; ZILLIOX, M.; BROXMEYER, H.; PAULO, C. 2020 *Identification of human CD4<sup>hi</sup> T cell populations with distinct antitumor activity*. Science Advances. eaba7443  
URL: <https://advances.sciencemag.org/content/6/27/eaba7443.full>  
URN: DOI: 10.1126/sciadv.aba7443
- 278 CORDERO, O.; YANG, C.-P.; BELL, E. 2007 *On the role of CD26 in CD4 memory T cells*. Immunobiology. 85–94  
URN: DOI: 10.1016/j.imbio.2006.12.002  
URN: PubMed ID: 17336829
- 279 WARRINGTON, K.; VALLEJO, A.; WEYAND, C.; GORONZY, J. 2003 *CD28 loss in senescent CD4+ T cells: reversal by interleukin-12 stimulation*. Blood. 3543–3549  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12506015/>  
URN: DOI: 10.1182/blood-2002-08-2574  
URN: PubMed ID: 12506015
- 280 TOPP, M.; RIDDELL, S.; AKATSUKA, Y.; JENSEN, M.; BLATTMAN, J.; GREENBERG, P. 2003 *Restoration of CD28 expression in CD28- CD8+ memory effector T cells reconstitutes antigen-induced IL-2 production*. Journal of Experimental Medicine. 947–955  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2194206/>  
URN: DOI: 10.1084/jem.20021288

URN: PMCID: PMC2194206  
URN: PubMed ID: 12963692

281 CHEN, X.; LIU, Q.; XIANG, A. 2018 *CD8+CD28- T cells: not only age-related cells but a subset of regulatory T cells*. Cellular & molecular immunology. 734–736  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6141529/>  
URN: DOI: 10.1038/cmi.2017.153  
URN: PMCID: PMC6141529  
URN: PubMed ID: 29375130

282 VALLEJO, A.; SCHIRMER, M.; WEYAND, C.; GORONZY, J. 2000 *Clonality and longevity of CD4+CD28null T cells are associated with defects in apoptotic pathways*. Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950). 6301–6307  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11086066/>  
URN: DOI: 10.4049/jimmunol.165.11.6301  
URN: PubMed ID: 11086066

283 VERMA, K.; OGONEK, J.; VARANASI, P.; LUTHER, S.; BÜNTING, I.; THOMAY, K.; BEHRENS, Y.; MISCHAK-WEISSINGER, E.; HAMBACH, L. 2017 *Human CD8+ CD57- TEMRA cells: Too young to be called "old"*. PloS one. e0177405  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28481945/>  
URN: DOI: 10.1371/journal.pone.0177405  
URN: PMCID: PMC5421808  
URN: PubMed ID: 28481945

284 YAP, M.; TILLY, G.; GIRAL, M.; BROUARD, S.; DEGAUQUE, N. 2016 *Benefits of Using CD45RA and CD28 to Investigate CD8 Subsets in Kidney Transplant Recipients*. American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 999–1006  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26820487/>  
URN: DOI: 10.1111/ajt.13581  
URN: PubMed ID: 26820487

285 ORTIZ-SUÁREZ, A.; MILLER, R. 2002 *A subset of CD8 memory T cells from old mice have high levels of CD28 and produce IFN-gamma*. Clinical immunology (Orlando, Fla.). 282–292  
URN: DOI: 10.1006/clim.2002.5221  
URN: PubMed ID: 12217339

## **9. Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift**

Die Studie wurde konzipiert mit Herrn Prof. Dr. E. Wieland, ärztlicher Leiter, und Frau Dr. med. M. Shipkova, Fachärztin für Laboratoriumsmedizin.

Durchgeführt wurde sie im Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Klinikums Stuttgart.

Die klinischen Daten der Patienten wurde zusammen mit Inge Lautner, den Doktorandinnen Carolin Bräuer, Ortrun Canzler, Silvia Hubel und Verena Schauerte recherchiert und dokumentiert.

Alle laborchemischen Untersuchungen wurden im Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin im Klinikum Stuttgart durchgeführt und mir zur Verfügung gestellt.

Statistische Verfahren wurden mit Prof. E. Wieland und Dr. med. M. Shipkova besprochen und von mir durchgeführt. Herr Dr. Simon Müller (der Firma MUON-STAT) unterstützte die statistische Auswertung. Er erstellte die Abbildungen 2-5, 34-37, 38-40 sowie Tabelle 17 und stellte die Daten für Tabelle 15, 16, 18 und 19-22 zur Verfügung. Er führte zudem die Berechnungen der Cox-Regression, der AUC-, der ROC- und der PR-Kurven durch.

Herr Prof. Dr. E. Wieland betreute die Studie.

Ich versichere hiermit , dass ich das Manuskript selbstständig verfasst habe und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet habe.

Stuttgart, den 13.11.2020

Dominique Adelhof



## **10. Danksagung**

Ganz besonders bedanken möchte ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. E. Wieland und meiner Betreuerin Frau Dr. med. M. Shipkova. Danke für die hervorragende Betreuung!

Ebenfalls möchte ich mich bei Herr Dr. Simon Müller bedanken, der die Studie mit hochwertigen statistischen Verfahren unterstützt hat.

Ein besonderer Dank gilt den Mitarbeitern des Zentralinstituts für Klinische Laboratoriumsmedizin im Klinikum Stuttgart für die Durchführung der laborchemischen Messungen. Hier möchte ich mich besonders bei Frau Mariana Kabachiev bedanken.

Auch meinen Eltern und meinem Freund möchte ich an dieser Stelle für Ihre Unterstützung ein herzliches Danke sagen.