

Aus dem Zentrum für Operative Medizin der Universität zu Köln,  
Klinik und Poliklinik für Allgemein-, Viszeral-, Thorax- und Transplantationschirurgie  
der Universität zu Köln  
Direktorin: Universitätsprofessorin Dr. med. C. J. Bruns

## **Transplantarteriopathie neu betrachtet**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Universität zu Köln

vorgelegt von  
Katharina Wirths  
aus Köln

promoviert am 08. Dezember 2025

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln  
2026

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. G. R. Fink

1. Gutachter: Universitätsprofessor Dr. med. D. Stippel
2. Gutachter: Universitätsprofessor Dr. med. D. Steven

## Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten:

Herrn Univ.-Prof. Dr. Dirk Stippel  
Herrn Dr. Jan Ulrich Becker

Weitere Personen waren an der Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Experimente wurden teilweise durch mich, teilweise durch Routinediagnostikverfahren des Instituts für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie durchgeführt. Bei der Durchführung der zugrunde liegenden Experimente erhielt ich Unterstützung von Herr Dr. Jan Ulrich Becker und dem medizinisch-technischen Assistenten Herrn Marc Esser und der medizinisch-technischen Assistentin Magdalene Fielenbach.

Die dieser Arbeit zugrundliegenden klinischen Daten wurden durch mich an der Klinik und Poliklinik für Allgemein-, Viszeral, Thorax- und Transplantationschirurgie erhoben.  
Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Experimente wurden durch Routinediagnostikverfahren des Instituts für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie durchgeführt.

Die pathologischen Schnitte mit verschiedenen Färbungen wurden von mir und Herrn Dr. Becker gemeinsam ausgewertet.

Die vorliegenden Ergebnisse wurden bereits im Journal of Nephrology unter meiner Erstautorenschaft publiziert.<sup>1</sup> Der Material- und Methodenteil und der Ergebnisteil wurden von mir neu zusammengefasst oder ohne Hilfsmittel frei übersetzt. Der Einleitungs- und Diskussionsteil wurden ergänzend zu den jeweils veröffentlichten Kapiteln von mir geschrieben.

Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 18.07.25

Unterschrift: .....

## **Danksagung**

Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. Dirk Stippel und Herrn Dr. Jan Ulrich Becker, dass ich über das Thema der antikörpervermittelten Abstoßung und im Speziellen zum Thema der Transplantarteriopathie forschen konnte. Die Arbeit an Ihren Instituten hat mir einen enormen Wissenszuwachs erbracht, teilweise auch außerhalb des vorliegenden Themengebietes.

Durch die Arbeit an beiden Instituten mit Herrn Prof. Dr. Stippel und Herrn Dr. Jan Ulrich Becker auch schon während meines Studiums hat sich meine berufliche Laufbahn insofern festgelegt, als dass ich mich nicht zuletzt durch diese Arbeit dazu entschieden habe, die Facharztausbildung für Innere Medizin und Nephrologie anzustreben.

Ich bedanke mich bei meinen Eltern und Schwiegereltern ohne deren Unterstützung mir diese Arbeit zeitlich mit zwei Kindern nicht mehr möglich gewesen wäre, vielen Dank für die immerwährende Hilfe und die vielen aufbauenden und motivierenden Worte.

Ich bedanke mich bei meinen Kindern, die in der Zeit, in der ich diese Arbeit fertiggestellt habe auf mich verzichten mussten. Und ich bedanke mich bei meinem Mann Johannes, dass er immer für mich da ist, mich immer unterstützt hat und an mich glaubt.

Für Johannes und meine Kinder

# Inhaltsverzeichnis

|   |           |
|---|-----------|
| <b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>  | <b>9</b>  |
| <b>1. ZUSAMMENFASSUNG</b>   | <b>11</b> |
| <b>2. EINLEITUNG</b>  | <b>12</b> |
| <b>2.1. Begriffsdefinition und Erstbeschreibung der Transplantarteriopathie</b>   | <b>14</b> |
| <b>2.1.1. Begriffsdefinition</b>  | <b>14</b> |
| <b>2.1.2. Erstbeschreibung der TXA</b>  | <b>15</b> |
| <b>2.2. Wie entsteht eine TXA durch die Abstoßungsreaktionen der AMR und TCMR?</b>  | <b>15</b> |
| <b>2.2.1. Antigenerkennung</b>  | <b>15</b> |
| <b>2.2.2. Antikörperproduktion</b>  | <b>16</b> |
| <b>2.2.3. Donorspezifische Antikörper (DSA)</b>   | <b>16</b> |
| <b>2.2.4. Effekte der aktiven AMR am Zielgewebe - Arteritis, MVI und TMA</b>  | <b>20</b> |
| <b>2.2.5. Komplementabhängige(r) und -unabhängige(r) Inflammation, Prokoagulation, Zelltod und Proliferation durch Antikörper</b>                     | <b>21</b> |
| <b>2.2.6. Aktivierung des Komplementsystems mit Inflammation, Koagulation und Zelltod</b>   | <b>21</b> |
| <b>2.2.7. Komplementunabhängige(r) Inflammation, Prokoagulation, Proliferation und Zelltod durch Antikörper</b>                                       | <b>22</b> |
| <b>2.2.8. Effekte der aktiven AMR <i>in vivo</i></b>  | <b>23</b> |
| <b>2.2.9. Effekte der aktiven AMR am Menschen</b>   | <b>25</b> |
| <b>2.3. Chronische Effekte der AMR: Transplantarteriopathie, Transplantglomerulopathie und peritubuläre Kapillaren Basalmembran Multilamellierung</b> | <b>25</b> |
| <b>2.3.1. Effekte der chronisch (aktiven) AMR <i>in vivo</i></b>  | <b>26</b> |
| <b>2.3.2. Effekte der chronisch (aktiven) AMR am Menschen</b>   | <b>28</b> |
| <b>2.3.3. Elastische Fasern und TXA</b>   | <b>28</b> |
| <b>2.3.4. Leukozyteninfiltration, Schaumzellen und TXA</b>  | <b>29</b> |
| <b>2.4. TCMR – Arteritis und TXA</b>  | <b>31</b> |
| <b>2.4.1. TCMR-Arteritis <i>in vivo</i></b>   | <b>31</b> |
| <b>2.4.2. TCMR-TXA <i>in vivo</i></b>   | <b>31</b> |
| <b>2.4.3. TCMR-Arteritis in menschlichen Biopsien</b>   | <b>33</b> |
| <b>2.5. NK-Zellen und Makrophagen in der TXA-Entstehung</b>   | <b>34</b> |
| <b>2.6. Abstoßungsunabhängige Differenzialdiagnosen der arteriellen Intimaverbreiterung</b>   | <b>37</b> |
| <b>2.7. Die Banff Klassifikation: Arteritis und TXA als Diagnosekriterium der TCMR und AMR</b>  | <b>38</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| 2.8. Fragestellungen und Ziel der Arbeit  | 41        |
| <b>3. MATERIAL UND METHODEN</b>   | <b>42</b> |
| 3.1. Studiendesign – Einschlusskriterien der retrospektive AMR-Kohorte  | 42        |
| 3.2. Histologie und TXA-Definitionen  | 43        |
| 3.3. Klinische Daten  | 44        |
| 3.4. HLA-DSA Testung  | 44        |
| 3.5. Ethik  | 44        |
| 3.6. Statistik  | 44        |
| <b>4. ERGEBNISSE</b>  | <b>45</b> |
| 4.1. Häufigkeitsverteilung der TXA in allen Biopsien und in den Indexbiopsien   | 45        |
| 4.2. Patientencharakteristik  | 45        |
| 4.3. Verlaufsbetrachtung der TXA  | 45        |
| 4.4. Histologie und Serologie der TXA-Patienten   | 46        |
| 4.4.1. Transplantarteriopathie und TCMR   | 47        |
| 4.4.2. Transplantarteriopathie und HLA DSA  | 48        |
| 4.4.3. Transplantarteriopathie und AMR  | 48        |
| 4.5. Prognose der Patienten mit einer Transplantarteriopathie   | 50        |
| <b>5. DISKUSSION</b>  | <b>50</b> |
| 5.1. Inzidenz der TXA   | 50        |
| 5.2. TXA als Diagnosekriterium in der Banff-Klassifikation – offene Fragen und Widersprüche   | 51        |
| 5.2.1. Arteritis Hybridläsion, TXA keine Hybridläsion   | 51        |
| 5.2.2. Sequenzielle Entstehung der TXA  | 52        |
| 5.2.3. Gemeinsame Endstreckenentstehung   | 52        |
| 5.2.4. TCMR - Arteritis und TXA – Subtypen und Spezifitätsfrage   | 53        |
| 5.2.5. Widerspruch des obligaten Ausschlusses der (tubulointerstitiellen) TCMR und von Differentialdiagnosen für eine AMR-TXA bis 2019 <sup>6</sup> , Unabhängigkeit der tubulointerstitiellen Inflammation und einer Arteritis | 54        |
| 5.2.6. Spezifitätssorge, zwei- bis dreigliedrige AMR-Diagnose   | 56        |

|  |           |
|--|-----------|
| 5.2.7. Problematik des „Neu Auftretens“  | 56        |
| 5.2.8. Andere Abstoßungsmechanismen als in der Banff-Klassifikation                    | 57        |
| 5.2.9. Lösungsvorschlag TXA - Diagnosekriterium präzisieren                            | 58        |
| 5.3. Zellinfiltrierte TXA, Leukozyteninfiltration DD Myofibroblasten                   | 58        |
| 5.4. Hyperelastotische TXA im AMR-Kontext?   | 59        |
| 5.5. Schlechtes Transplantatüberleben korreliert mit TXA                               | 61        |
| 5.6. Limitationen der vorliegenden Arbeit  | 61        |
| 5.7. Zusammenfassung, Ausblick und Empfehlung für die Praxis                           | 63        |
| <b>6. LITERATURVERZEICHNIS</b>   | <b>65</b> |
| <b>7. ANHANG</b>   | <b>73</b> |
| 7.1. Abbildungsverzeichnis   | 73        |
| 7.1.1. Abbildung 1 Exemplarische Bilder des TXA-Spektrums                              | 73        |
| 7.1.2. Abbildung 2 Evolution der TXA über Folgebiopsien                                | 74        |
| 7.1.3. Tod-zensierte Transplantatüberlebenskurven der 33 Indexbiopsien mit und ohne TG |           |
| 76   |           |
| 7.2. Tabellenverzeichnis   | 76        |
| 7.2.1. Tabelle 1: Patientencharakteristik und Histologie der n=33 Indexbiopsien.       | 76        |
| 7.2.2. Tabelle 2 Kaplan-Meier Schätzungen des Transplantatüberlebens                   | 78        |
| <b>8. VORABVERÖFFENTLICHUNGEN VON ERGEBNISSEN</b>                                      | <b>79</b> |

## Abkürzungsverzeichnis

ADCC = antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität (Antibody dependent cell-mediated cytotoxicity)

AK = Antikörper

AMR= antikörpervermittelte Abstoßung (Antibody mediated rejection)

aAMR = aktive AMR

caAMR = chronisch aktive AMR

cAMR = chronische AMR

c(a)AMR = chronische und chronisch aktive AMR

APC = Antigen-präsentierende Zelle (antigen-presenting cell)

ATG = Antithymozytenglobulin

DSA = Donor spezifische Antikörper

ELAM-1 = endothelial leucocyte adhesion molecule-1

EZM = Extrazellulärmatrix

FAK = Focal adhesion kinase

FGFR = Fibroblast growth factor receptor

HLA = Humanes Leukozytenantigen (human leucocyte antigen)

ICAM-1 = intercellular adhesion molecule-1

IF-Färbung = Immunfloureszenzfärbung

IFN- $\gamma$  = Interferon- $\gamma$

IHC-Färbung = Immunhistochemiefärbung

IL = Interleukin

KIR = Killer-Cell-Immunglobulin-Like-Rezeptoren

LFA-1 = lymphocyte function-associated antigen-1

MCP-1 = Monocyte chemoattractant protein-1

MHC = Haupthistokompatibilitätskomplex (major histocompatibility complex)

miRNA = microRNA

mRNA = messenger RNA

MVI = Mikrovaskuläre Inflammation (microvascular inflammation)

NK-Zelle = Natürliche Killerzelle

PTCML = Peritubuläre Kapillaren Basalmembran Multilamellierung (peritubular capillary basement membrane multilayering)

$\alpha$ -SMA= Smooth muscle cell alpha actin

SMC = glatte Muskelzelle (smooth muscle cell)

SAB = single antigen beads

TCMR = T-Zellvermittelte Abstoßung (T-cell mediated rejection)

aTCMR = aktive TCMR

caTCMR = chronisch aktive TCMR

TG = Transplantglomerulopathie

TMA = Thrombotische Mikroangiopathie

TNF- $\alpha$  = Tumornekrosefaktor- $\alpha$

TUNEL = TdT-mediated dUTP-biotin Nick-End Labeling

TXA = Transplantarteriopathie

HE-TXA = hypoelastotische Transplantarteriopathie

FC-TXA = Transplantarteriopathie mit einem Schaumzell-Infiltrat

LCA-TXA = Transplantarteriopathie mit einem LCA-positiven Infiltrat

## 1. Zusammenfassung

Das Korrelat einer chronischen abstoßungsbedingten Entzündung der Arterie, die Transplantarteriopathie (TXA) war bis 2022 als Hybridläsion in der Banff-Klassifikation anerkannt, also als Läsion die durch die antikörpervermittelte Abstoßungsreaktion (AMR) und durch die T-Zellvermittelte Abstoßungsreaktion (TCMR) entstehen kann. Die kürzliche Entscheidung der Banff-Foundation, die TXA als Diagnosekriterium der AMR zu streichen, wird durch ihre schlechte Spezifität begründet. Die Entscheidung spiegelt die uneinheitliche Definition und Beschreibung der TXA in der Literatur wider; selbst in der Banff-Klassifikation war die TXA bis 2022 nur als Ausschlussdiagnose definiert.

In der Literatur ist die Entstehung der TXA durch HLA-Antikörper belegt. Es werden darüber hinaus verschiedene Muster der TXA beschrieben; arterielle Intimaverbreiterungen mit Leukozyten- oder Schaumzellinfiltration oder Intimaverbreiterungen, welche ohne eine Vermehrung von elastischen Fasern einhergehen. Alle 3 Subtypen könnten zu einer besseren Abgrenzbarkeit der TXA im AMR- oder Abstoßungskontext beitragen. Bis dato wurden diese Subtypen aber in keiner Arbeit quantifiziert und in den Kontext mit anderen Abstoßungsparametern gesetzt.

Ziel dieser Arbeit ist die Quantifizierung und vergleichende Aufarbeitung der Subtypen im AMR-Kontext hinsichtlich klinisch-epidemiologischer Daten und histologischer Abstoßungsparameter, sowie des Transplantatüberlebens.

Unsere Befunde mit dem häufigen Vorliegen von anderen AMR-Parametern bei allen 3 Subtypen sprechen dafür, dass alle 3 Subtypen eine chronische AMR widerspiegeln. Auch spricht das schlechte Transplantatüberleben der Kohorte insbesondere in Kombination mit einer TG für eine Prognoserelevanz der TXA im AMR-Kontext. Multizentrische, idealerweise prospektive Studien sollten die TXA im AMR-Kontext neu betrachten, um die Entscheidung die TXA als Diagnosekriterium der AMR zu streichen, auf ihre Richtigkeit hin zu überprüfen.

## 2. Einleitung

Die antikörpervermittelte Abstoßung (AMR) wurde in verschiedenen Studien als häufigster Grund für einen Transplantatverlust nach Nierentransplantation identifiziert.<sup>2,3</sup> Entscheidend ist es deshalb, eine AMR sicher zu diagnostizieren, damit eine rasche Therapieeinleitung für ein potenziell verbessertes Transplantatüberleben eingeleitet werden kann.

Für die pathologische Diagnostik von Nierentransplantaten im klinischen Kontext steht der Medizin seit 1993 ein sich stetig fortentwickelndes Klassifikationssystem, die Banff-Klassifikation, zur Verfügung.<sup>4</sup> Ziel dieses Klassifikationssystems war und ist es, eine reproduzierbare, standardisierte Grundlage zur Diagnosestellung von Pathologien am Nierentransplantat zu erstellen und diese von unspezifischen Transplantatveränderungen abzugrenzen. Die Banff-Klassifikation dient dabei als Leitfaden die Abstoßungsmechanismen der AMR und der T-Zellvermittelten Abstoßung (TCMR) voneinander abzugrenzen oder auch zusammen zu diagnostizieren. Banff formuliert hierfür 6 Diagnosekategorien, wobei neben den mechanistisch getrennten Abstoßungsreaktionen weitere Kategorien abgegrenzt werden können. Ziel der Klassifikation ist es hierbei, die diagnostische Sensitivität und Spezifität der jeweiligen Diagnosekategorien weiter zu verbessern.

Aktuell wird die Banff-Klassifikation vor neue Herausforderungen gestellt, da verschiedene Autoren das jetzige Konzept der mechanistischen Dichotomisierung der Abstoßungsreaktionen („nur“ der AMR und TCMR) infrage stellen. Immer mehr Arbeiten sprechen dafür, dass selbst die von der Banff-Klassifikation genannten histologischen Diagnosekriterien der Abstoßungsreaktionen auch durch alternierende Immunmechanismen, also nicht nur T-Zell- oder antikörpervermittelt entstehen können; teilweise können diese auch überlappend durch eine AMR und TCMR entstehen. Somit wird infrage gestellt, ob durch die einzelnen Kriterien sicher zwischen einer AMR und TCMR unterschieden werden kann und ob nicht auch synergistische Abstoßungsmechanismen unter der fakultativen Beteiligung unterschiedlicher Immunzellen als Differenzialdiagnose in Betracht gezogen werden müssen.<sup>5,6</sup>

Vor diesem Hintergrund gestaltet es sich für die Banff-Klassifikation besonders schwierig, einerseits eine sensitive, aber auch andererseits eine spezifische Diagnoseformulierung der AMR und TCMR vorzunehmen. Diese Schwierigkeiten spiegeln sich in den aktuell veränderten Diagnosekriterien der AMR hinsichtlich der „Transplantarteriopathie“ (TXA) wider.

Bis zur Banff Klassifikation 2022 war ein Diagnosekriterium der chronischen und chronisch aktiven AMR (cAMR und caAMR) eine „TXA“, die Banff als „arterielle Intimafibrose“ eingrenzte. Sie musste für Banff zudem neu aufgetreten sein und für sie mussten andere Ursachen ausgeschlossen sein.<sup>7,8</sup>

Mit der Veröffentlichung der Banff Klassifikation 2022 ist eine solche arterielle Intimalfibrose nicht mehr Diagnosekriterium der AMR.<sup>9</sup>

Hierzu entschieden sich die Autoren der Klassifikation, obwohl sie selbst einräumen, dass durch verschiedene Tierversuche und Arbeiten am Menschen die diagnostische Validität der Läsion und sogar die Prognoserelevanz der Läsion als gesichert gilt.<sup>10</sup> Nichtsdestotrotz streicht die aktuelle Banff Klassifikation diese Läsion aufgrund der von den Autoren als unzureichend angesehenen Spezifität und der schlechten Reproduzierbarkeit der Diagnose der TXA. Zudem wird kritisiert, dass für die Diagnosefindung eine Vorbiopsie erforderlich ist, um das obligate Neuauftreten der arteriellen Intimalfibrose zu belegen. Es wird weiterhin daraufhin gewiesen, dass diese Läsion bei nicht immer im Schnitt vorliegenden Arterien in Nierenbiopsien häufig nicht diagnostiziert werden konnte.<sup>10</sup>

Vor dem Hintergrund des Ziels der Klassifikation eine hohe Sensitivität und Spezifität für die Diagnose einer AMR zu gewährleisten, erscheint es aber nicht sinnvoll, eine gesichertes Diagnosekriterium der AMR gänzlich zu streichen.

Auch wenn anderweitige Abstoßungsmechanismen eine TXA verursachen können und das Prinzip der Dichotomisierung der Abstoßungsreaktionen nicht mehr zutrifft,<sup>5,6</sup> müssen unabhängig hiervon bei einer mechanistischen Aufteilung von Abstoßungsreaktionen alle bekannten Diagnosekriterien des jeweils abgegrenzten Mechanismus vollständig aufgeführt sein.

So sollte das Ziel der Banff-Klassifikation stattdessen sein, die Diagnosekriterien an sich und die Klassifikation im Ganzen so zu formulieren, dass unter Berücksichtigung aller bekannter Merkmale einer Abstoßungsreaktion eine hohe Spezifität und Sensitivität garantiert wird.

Die genannten Kritikpunkte der aktuellen Banff-Klassifikation traten vermeintlich auch dadurch auf, dass die AMR assoziierte TXA in der Banff-Klassifikation nicht über weiterführende morphologische/histologische Kriterien subklassifiziert wurde.

Stattdessen wurde die TXA als zwingend neu aufgetretene Ausschlussdiagnose definiert. Die Banff-Klassifikation räumt hier selbst ein, dass das Neu-Auftreten schwer zu beweisen ist<sup>10</sup>. Zweitens ist der Ausschluss von Differenzialdiagnosen besonders schwierig, wenn keine Eingrenzung der Morphologie erfolgt.

In der Primärliteratur wurden verschiedene histologische Erscheinungsmuster im AMR-Kontext hervorgehoben, welche eine Zuordnung arterieller Intimaverbreiterungen zur AMR einfacher machen könnten. Dazu zählt erstens eine hypoelastotische Verbreiterung der arteriellen Intima, also eine solche, welche ohne oder nur mit einem geringen Anteil einer Vermehrung elastischer Fasern einhergeht.<sup>11-14</sup> Zweitens wurde eine mögliche Infiltration der arteriellen Intima von Leukozyten dokumentiert,<sup>15-17</sup> drittens wurden speziell Schaumzellen in

der arteriellen Intimaverbreiterung beobachtet.<sup>16</sup> Bis dato fehlt eine Arbeit, welche diese histologische Erscheinungsbilder arterieller Intimaverbreiterungen im AMR-Kontext aufarbeitet und jeweils quantifiziert.

Ziel dieser Arbeit ist es arterielle Intimaverbreiterungen mit den Subtypenmerkmalen der Hypoelastose, der Infiltration durch Leukozyten oder durch Schaumzellen zu quantifizieren. Die jeweiligen Untergruppen sollen bezüglich des Vorliegens anderer AMR-, aber auch TCMR-Markern, klinischer und epidemiologischer Parameter und bezüglich des Transplantatüberlebens verglichen werden.

Durch die von uns vorgeschlagenen Subtypen könnte die arterielle Intimaverbreiterung im AMR-Kontext besser eingegrenzt werden und das Diagnosekriterium spezifischer werden. Ob durch diese Subtypen eine ausreichende Spezifität und Reproduzierbarkeit der TXA entsteht, auf deren Basis die Reintegration der TXA in die Banff-Klassifikation vorgenommen werden kann, sollte aber auch durch weiterführende Arbeiten überprüft werden, um keine AMR, die sich auf den arteriellen Part der Niere projiziert (hat), zu übersehen.

## **2.1. Begriffsdefinition und Erstbeschreibung der Transplantarteriopathie**

### **2.1.1. Begriffsdefinition**

Zur Umschreibung der chronischen arteriellen Veränderungen, die im Zusammenhang mit Abstoßungen stehen, ist die Terminologie der Literatur uneinheitlich. Dies begründet sich auch dadurch, dass neben den unterschiedlichen Bezeichnungen auch unterschiedliche morphologische Subtypen in den Zusammenhang mit chronischen Abstoßungsschäden der Arterie gebracht werden. Neben den Begriffen der Transplantarteriopathie wird auch von einer Transplantvaskulopathie,<sup>18</sup> oder chronischen Allograft Arteriopathie<sup>17</sup>/Vaskulopathie<sup>19</sup> gesprochen. Aufgrund der Ähnlichkeit zu arteriosklerotischen Veränderungen wird diese entweder als Transplantarteriosklerose oder Transplantatherosklerose oder sogar ohne Abgrenzung als Arteriosklerose bezeichnet.<sup>14,15</sup> In manchen Primärarbeiten grenzen die Autoren die Veränderungen ein, indem diese genauer beschrieben und klassifiziert werden.<sup>14,15</sup> Auch die Banff-Klassifikation grenzt die TXA als arterielle Intimafibrose beschreibend ein.<sup>7,10</sup>

Alle unterschiedlichen Bezeichnungen der TXA und morphologische Subtypen haben gemein, dass der chronische abstoßungsbedingte Schaden an einer Arterie mit einer arteriellen Intimaverbreiterung einhergeht<sup>8,10,19</sup>.

In dieser Arbeit benutzen wir den Begriff der Transplantarteriopathie (TXA) für einen chronischen arteriellen Schaden, der im Zusammenhang mit einer Abstoßungsreaktion steht und mit einer arteriellen Intimaverbreiterung einhergeht; eine Ursachen- oder

Morphologieeingrenzung soll durch den Begriff nicht erfolgen. Weitere Eingrenzung erfolgen dann durch nähere Bezeichnungen der TXA die in der Arbeit weiter ausgeführt und erklärt werden.

### **2.1.2. Erstbeschreibung der TXA**

Erstbeschrieben wurde die arterielle Intimaverbreiterung 1955 in ersten Fallreporten zu menschlichen Nierentransplantaten von Hume et. al.<sup>20</sup> Die Autoren beschrieben arterielle Intimaverbreiterungen nach Nierentransplantation, die zu einer Lumeneinengung führten. Begleitend beschrieben sie fakultative Infiltrate durch Lipid-beladene Makrophagen, fragmentiere Laminae elasticae internae und atrophe, verdünnte Mediae. Die Genese dieser Veränderungen konnte noch nicht geklärt werden, es wurde neben der Entstehung der Veränderungen durch eine arterielle Hypertension auch eine antikörpervermittelte Genese diskutiert.<sup>20</sup>

Porter et al. untermauerten früh mit Veröffentlichung im Jahr 1963 die Theorie der Entstehung durch eine Abstoßungsreaktion. Sie entdeckten arterielle Intimaverbreiterungen verschiedenen Schweregrades mit nur teilweiser Lumenverlegung bis zur kompletten Okklusion an humanen Nierentransplantat-Fallreporten. Auch beobachteten sie eine Fragmentierung der internen Lamina elastica, sowie Fett-beladene Histiozyten. Dadurch, dass sie zeigen konnten, dass die Veränderungen abrupt an der hier vorgenommenen Anastomose zur Arteria iliaca interna des Nierentransplantats starteten, belegten die Autoren eine Abstoßungsreaktion weitgehend und widerlegten eine alternativ diskutierte hypertensive Genese. Auch normwertige Blutdruckdokumentationen widersprachen der Hypothese der Hypertension. Die Aufarbeitung der Medikation der Patienten machte eine dritte Möglichkeit der medikamentösen Entstehung ebenso unwahrscheinlich.<sup>21</sup> Erst mit der mechanistischen Abgrenzung der AMR und TCMR konnte später die Zuordnung der TXA zu den jeweiligen Abstoßungsreaktionen erkannt werden.

## **2.2. Wie entsteht eine TXA durch die Abstoßungsreaktionen der AMR und TCMR?**

### **2.2.1. Antigenerkennung**

Wird ein Organ transplantiert, so kommt es direkt nach Herstellung der Blutzirkulation im Transplantat im Spenderorgan zu Kontakt der Endothelzellen mit Zellen des Immunsystems des Empfängers. Die Haupthistokompatibilitätskomplexe (major histocompatibility complex = MHC) bedingen die Hauptallogenität eines Organs. Bei diesen auch als Humane Leukozyten Antigene (Human Leucocyte Antigen = HLA) bezeichneten Molekülen handelt es sich um Komplexe von Oberflächenglykoproteinen, die vererbt werden und sich von Mensch zu Mensch unterscheiden.<sup>22</sup> Die Erkennung und Identifizierung der sich unterscheidenden MHC-

Moleküle durch Immunzellen ist sowohl für die T-Zellvermittelte Abstoßungsreaktion als auch für die antikörpervermittelte Abstoßungsreaktion der Anfangspunkt einer Abstoßungsreaktion. Aber auch andere Immunzellen, wie beispielsweise NK-Zellen oder Makrophagen können über die Bindung an an MHC-Molekülen aktiviert werden und über die Erkennung dieser als körperfremd am Abstoßungsprozess beteiligt sein.<sup>5</sup> Man unterscheidet MHC-Klasse I und MHC Klasse II Moleküle.<sup>23</sup>

Der initiale Schlüsselschritt in der Antigenerkennung und Einleitung von Abstoßungsreaktionen ist die Aktivierung von T-Lymphozyten.<sup>12,24</sup> Diese können über drei verschiedene Mechanismen aktiviert werden („3 signal-modell“)<sup>5,25</sup>. Einerseits direkt, indem über den T-Zell-Rezeptor fremde intakte HLA auf Spender-Antigen-präsentierenden Zellen (APC) erkannt wird. Andererseits können T-Zellen indirekt oder semidirekt über empfängereigene APC aktiviert werden. Beim indirekten Weg werden prozessierte HLA-Fragmente den T-Zellen präsentiert. Beim semidirekten Weg können empfängereigene APC intakte Spender-HLA-Moleküle präsentieren.<sup>5,12,22,25,26</sup>

Auch die T-Zell abhängige B-Zell-Antwort, welche eine AMR einleitet, erfolgt über die gleichen Schritte der Antigenerkennung.<sup>5,22,27</sup> Die Aktivierung der T-Zelle kann aber auch zur Initiierung von intrazellulären Signalkaskaden führen, welche unter Kostimulation an sich eine T-Zellvermittelte Abstoßungsreaktion auslösen kann.<sup>5,12,22,24</sup>

### **2.2.2. Antikörperproduktion**

Eine B-Lymphozyten-Immunantwort, die gegen Proteine oder Peptide gerichtet ist, ist T-Lymphozyten-abhängig. Zur Einleitung der B-Zell Immunantwort muss es zwingend zu einem Kontakt zwischen T-Helper-Zelle und B-Lymphozyt kommen. Die T-Zellen dienen hier als Aktivatoren und Regulatoren der B-Lymphozyten.<sup>5,22,27,28</sup> B-Lymphozyten erkennen ihr Antigen direkt über ein membranständiges Immunglobulin, ihren B-Zell-Rezeptor (BCR). Auf einem MHC Klasse II Rezeptor präsentiert die B-Zelle wiederum ihr erkanntes Antigen und kann dann von einer aktivierte T-Zelle wiederum aktiviert werden. Diese Aktivierung führt zur B-Zell-Ausdifferenzierung. Unter Formation eines Keimzentrums kommt es zur somatischen Hypermutation unter den Keimzentrum-B-Lymphozyten. B-Zellen mit hoher Affinität zum präsentierten Antigen werden positiv selektiert und differenzieren sich dann zu Plasmazellen und Gedächtniszellen aus. Die ausdifferenzierten Plasmazellen sind die antikörperproduzierenden Zellen, die humorale Abstoßung ist durch ihr Entstehen mit der Antikörperproduktion immunologisch eingeleitet.<sup>27-31</sup>

### **2.2.3. Donorspezifische Antikörper (DSA)**

Ein Antikörper (AK) wird dann als donorspezifisch bezeichnet, wenn die Spezifität des Antikörpers zu den HLA-Merkmalen des Spenders passt. Der HLA-Antikörper ist dann gegen ein HLA-Mismatch gerichtet, also ein HLA-Merkmal, welches unterschiedlich zwischen

Spender und Empfänger ist. Ob ein HLA-Antikörper donorspezifisch ist, kann somit nur festgelegt werden, wenn die HLA-Eigenschaften des Spenders bekannt sind. Somit liegen bei einer Positivität von HLA-Antikörpern bei einem Empfänger nicht zwingend DSA vor, es kann sich auch um eine anderweitig stattgefundene Sensibilisierung gegen HLA-Moleküle handeln, welche nicht durch das Transplantat hervorgerufen wurde.<sup>32</sup>

Bei HLA-Antikörpern unterscheidet man, ob diese gegen die HLA Oberflächenmoleküle Klasse I oder Klasse II gerichtet sind. Eine weitere Subklassifizierung erfolgt dann bei HLA-Klasse I Antikörper in HLA-A, -B oder -C Antikörper. HLA-Klasse II Antikörper unterteilen sich weiter in HLA-DR, -DQ oder -DP Antikörper.<sup>32</sup>

HLA-Klasse I Antikörper entstehen häufig früher nach Transplantation und sind mit einer aktiven ABMR und einem frühen Transplantatverlust assoziiert.<sup>33</sup> HLA Klasse II Antikörper sind insgesamt häufiger, entstehen auch im späteren Verlauf nach Transplantation und sind ebenfalls Risikofaktor für einen Transplantatverlust.<sup>34,35</sup> Prognostisch relevant ist insbesondere die Fähigkeit der Antikörper zur Komplementbindung, Patienten mit einem C1q-komplementbindenden Antikörper zeigten histologisch eine stärkere Inflammation und wiesen ein deutlich schlechteres Transplantatüberleben auf, als Patienten mit nicht-komplementbindenden DSA oder Patienten ohne DSA.<sup>36,37</sup> Auch könnte der gebildete IgG-Subtyp (der unter anderem auch über die Komplementaktivierung entscheidet) eine prognostische Relevanz haben und eher für eine subklinische, chronische AMR (eher IgG4) oder eine aktive AMR hinweisend sein (eher IgG3).<sup>38</sup>

Risikofaktor für die Entwicklung von DSA ist eine hohe Anzahl von Mismatchen von HLA-Antigenen, hierbei wiegen aber manche schwerer als andere, insbesondere Mismatche der HLA-II-Antigene DQ und DR scheinen das Risiko für die Entwicklung von DSA zu erhöhen.<sup>34,35</sup> Auch eine Inadhärenz, sowie verschiedene Entzündungen beispielsweise im Rahmen von viralen Infektionen, einer Ischämie oder von vorherigen Abstoßungsepisoden können die Entwicklung einer AMR oder die Bildung von DSA triggern.<sup>32,35</sup>

Das erste Verfahren zum Nachweis von anti-HLA Antikörpern war das komplementabhängige zellbasierte Zytotoxizitäts-Crossmatch (CDC-Test). Dieser Crossmatch-Test zeigte damals Einführung den Zusammenhang zwischen präformierten Antikörpern beim Empfänger und dem direktem Organverlust nach Transplantation durch eine hyperakute Abstoßung. Bei dieser Diagnostikmethode wurde Empfängerserum mit Spender-Lymphozyten inkubiert. Nach Zugabe von Komplementfaktoren meist vom Kaninchen konnte das Komplementsystem durch die möglichen Antikörper im Empfängerserum aktiviert werden. Die Aktivierung des Komplementsystems zeigte das Vorhandensein der präformierten Antikörper an. Mit dieser Methode konnten nur Antikörper nachgewiesen werden, die Komplement binden und aktivieren.<sup>22</sup> Alternativ zu komplementbasierten Methoden, können

Immunfluoreszenzantikörper verwendet werden, die Empfängerantikörperbindungen an den Spender-Lymphozyten nachwiesen (Flow-Crossmatch), woraus sich eine höhere Sensitivität für den Nachweis von vorhandenen Antikörpern ableitete, da eben nicht nur komplementaktivierende Antikörper nachgewiesen werden.<sup>22</sup> Unmittelbar vor einer Transplantation erfolgt weiterhin ein CDC oder Flow-Crossmatch. Ist der Test positiv, so ergibt sich eine absolute Kontraindikation gegenüber einer Transplantation. Eine hyperakute Abstoßung durch präformierte Antikörper ist nach der Einführung dieser Tests extrem selten geworden.<sup>32</sup>

Neuere Verfahren weisen HLA-Antikörper nicht mehr über Inkubation mit Zellen nach, sondern über Festphasen-Assays. Ein solches Nachweisverfahren mit multiplexer Plattform ist das „Luminex“ Single Antigen Bead Assay. Es ist hochsensitiv und hochspezifisch. Verwendet werden winzige farbkodierte Plastikkugeln, sogenannte „Beads“, die spezifisch mit einzelnen MHC-Klasse I oder II Epitopen beschichtet sind. Die Beads und die daran gebundene Antigene können anhand der Beadfarbe unterschieden werden. Eine Mischung der Beads wird mit Empfängerserum inkubiert, dessen Antikörper spezifisch an die Epitope auf den entsprechend farbcodierten Beads binden. Im nächsten Schritt werden fluoreszenzkonjugierte anti-IgG-Antikörper hinzugefügt. Diese fluoreszenzkonjugierten Antikörper (Detection Antikörper) binden dann an die anti-HLA-Antikörper auf den Beads mit den spezifischen Epitopen. Im Luminex Analyzer passieren die Mikrobeads zwei Laser. Ein Laser detektiert die Farbe des Mikrobeads und damit das spezifische HLA-Epitop. Der zweite Laser detektiert die Menge des an das spezifische Epitop gebundenen Antikörpers über die Fluoreszenzintensität des Sekundärantikörpers. Das quantitative Ergebnis von mehreren durchgeführten Assays wird als mittlere Fluoreszenz-Intensität (MFI) angegeben. Aufgrund der hohen Spezifität und Sensitivität ist dieses Verfahren nun als diagnostischer Standard etabliert.<sup>39</sup>

Die MFI ist unter anderem beeinflusst durch die Epitop-Ähnlichkeit des Bead-gebundenen Epitops zu dem Epitop *in vivo*, die HLA-Antikörperkonzentration im Empfänger, die Bindungsfähigkeit des HLA-Antikörpers an das Antigen (Antikörperreaktivität) und auch durch den Prozoneneffekt. Beim Prozoneneffekt kann es bei einem hohen Antikörpertiter zu einer Falsch-Negativität kommen. Ursächlich ist am ehesten eine Aktivierung des Komplementsystem mit einer C1-Komplexbildung, welche die Bindung des Sekundär-Antikörpers blockiert.<sup>6,38,40</sup>

Es werden verschiedene Cut-off Werte diskutiert, ab wann das Ergebnis als positiv für den Nachweis eines HLA-Antikörpers und mit passendem Mismatch als DSA gewertet wird. Ein universal als richtig angesehenen Cut-off Wert für die Bewertung als „positiv“ existiert nicht und der verwendete Cut off Wert divergiert stark in unterschiedlichen Kliniken oder

Studien.<sup>6,32,33,41</sup> Die Höhe des MFI scheint aber mit einer schlechteren Prognose zu korrelieren.<sup>33,38,42</sup>

Wird der single bead Assay vor der Transplantation verwendet, um eine Sensibilisierung gegen Antigene des potenziellen Spenders zu identifizieren, so stellt der positive Nachweis von potenziell donor-spezifischen Antikörpern eine relative Kontraindikation hinsichtlich einer Transplantation dar. Eine Transplantation sollte nicht erfolgen, wenn es sich um „nicht akzeptierbare“ Antikörper handelt. Durch das Luminex Verfahren erfolgt ein virtuelles Crossmatch, dass genutzt wird, um Organe nur an Empfänger anzubieten, die überhaupt durch ihre fehlende oder akzeptable Vorsensibilisierung für eine Transplantation des angebotenen Organs infrage kommen.<sup>32,38</sup>

Neben den oben besprochenen HLA-Antikörpern können aber auch andere Antigene eine Antikörperproduktion triggern und ebenso eine AMR verursachen. Diese unterteilen sich grob in erstens Antikörper, die gegen andere polymorphe Antigene gerichtet sind, welche sich zwischen verschiedenen Menschen unterscheiden und zweitens in Antikörper, die gegen körpereigene Antigene gerichtet sind.<sup>6</sup> Beispiele für erstere sind Antikörper, die gegen Antigene des AB0-Blutgruppensystems gerichtet sind. Über sie kann bei AB0-inkompatibler Spende eine hyperakute Abstoßung verursacht werden.<sup>22</sup> Andere Antikörper, die einer ABMR zugrunde liegen sind Antikörper gegen MHC class I chain-related sequence A (MICA)<sup>43</sup> und Beispiele für die zweite Gruppe Antigluthation-S-Transferase-Antikörper<sup>44</sup>, Anti-Endothelzell-Antikörper<sup>45</sup>, sowie Anti-Angiotensin-Rezeptor-Antikörper<sup>46</sup>.

Banff weist auf diese Non-HLA Antikörper hin, verweist aber darauf, dass außer der AB0-Antikörper keiner der Non-HLA-Antikörper suffizient validiert ist, um diese in das Routine-Diagnostik-Protokoll der Klassifikation aufzunehmen.<sup>10</sup>

## 2.2.4. Effekte der aktiven AMR am Zielgewebe - Arteritis, MVI und TMA

Ist die antikörpervermittelte Abstoßungsreaktion immunologisch mit der Bildung von antikörpersezernierenden Plasmazellen eingeleitet, so können die Antikörper verschiedene Effekte an verschiedenen Zellen des Transplantats haben. Da Antikörper über die Blutzirkulation in Kontakt mit dem Endothel des Transplantats kommen, sind vor allem dort Effekte zu beobachten.<sup>47</sup> Entsprechend sind die Diagnosekriterien und das Korrelat einer aAMR eine mikrovaskuläre Inflammation der glomerulären und peritubulären Kapillaren bis hin zum Bild einer thrombotischen Mikroangiopathie (TMA), aber auch Arteritiden mit einer fakultativen fibrinoiden Nekrose.<sup>8,10</sup>

Die Glomerulitis ist im Sinne einer glomerulären Entzündung in der Banff-Klassifikation über den Banff Lesion Score „g“ definiert. Dieser bemisst den Anteil aller segmental oder global entzündeter Glomeruli. Diese werden als entzündet gewertet, wenn in ihren Kapillaren eine komplett oder partielle Okklusion durch Entzündungszellen mit einer Endothelzellschwellung vorliegt. Beide Kriterien müssen zwingend für die Glomerulitis vorliegen, die Leukozyten können polymorphkernig oder mononuklear sein. Betrifft die Entzündung 25% oder weniger der Glomeruli, so liegt ein g1-Score vor, sind bis zu 75% der Glomeruli betroffen, so liegt ein g2 Score vor, sind es über 75% so liegt ein g3 Score vor.<sup>8,10</sup>

Die peritubuläre Kapillaritis ist als peritubuläre Kapillaren-Entzündung nach Banff über den Banff Lesion Score „ptc“ definiert und betrifft die am schwersten entzündete peritubuläre Kapillare, wobei der Grad der Entzündung durch die Anzahl von intrakapillären Entzündungszellen bemessen ist. Für alle Banff ptc-Scores  $\geq 1$  muss darüber hinaus aber mindestens eine Entzündungszelle in mindestens 10% der peritubulären Kapillaren zu finden sein. Für einen Banff-ptc-Score 1 muss die am schwersten betroffene Kapillare durch 3-4 Leukozyten zusätzlich infiltriert sein. Für einen Banff-ptc-Score 2 zählt die am schwersten betroffene Kapillare bis zu 10 Leukozyten, sind mehr als 10 Leukozyten in einer Kapillare zu finden, so liegt ein Banff ptc-Score 3 vor. Zu beachten ist, dass nur die peritubulären Kapillaren im Cortex beurteilt werden dürfen, ihre Korrelate im Nierenmark, die medullären Vasa recta, sollen nicht in die Auswertung einbezogen werden. Zusätzlich sollen die peritubulären Kapillaren weder longitudinal angeschnitten sein, noch in Bereichen einer akuten Pyelonephritis oder eines Infarkts oder in Bereichen, die nah zu lymphoiden Aggregaten liegen, ausgewertet werden.<sup>8,10</sup>

Die TMA wird in den „additional diagnostic parameters“ der Banff-Klassifikation aufgeführt und kann nur für eine aAMR gewertet werden, wenn für sie keine andere Ursache vorliegt, also Differentialdiagnosen, die eine TMA verursachen können ausgeschlossen sind.<sup>8,10</sup> Diagnostische Kriterien für die Diagnose einer TMA in Nierentransplantaten im klinisch-histologischen Kontext wurden durch die zugehörige Banff-Working Group festgelegt. Histologisch sind unabhängig der Ursache für die TMA neben dem fakultativen Verschluss von Kleinstgefäßen auch andere Manifestationen möglich, beispielsweise als Korrelat einer chronischen TMA eine glomeruläre Basalmembranaufsplitterung.<sup>48</sup>

Banff definiert die Arteritis im „Banff Lesion Score v“ als Inflammation der arteriellen Intima. Diese wird als eine Infiltration von Entzündungszellen, vor allem von Lymphozyten oder Monozyten in den subendothelialen Raum, definiert. Eine Arterie muss nach Banff mindestens zwei Schichten von glatten Muskelzellen aufweisen, um als solche definiert zu werden. Die Schwere der Arteritis bemisst Banff nach der am schwersten betroffenen Arterie, wobei eine betroffene Arterie ausreichend ist. Ein Banff-Score v1 spiegelt eine milde bis moderate Arteritis wider, für einen v2-Score muss durch die Entzündung ein mindestens 25%iger Verlust des Lumens entstehen, für eine v3 Läsion muss die Arteritis transmural sein oder es muss eine fibrinoide oder glattmuskuläre Nekrose vorliegen.<sup>8,10</sup>

## **2.2.5. Komplementabhängige(r) und -unabhängige(r) Inflammation, Prokoagulation, Zelltod und Proliferation durch Antikörper**

Bekannte Effekte von HLA-Antikörpern am Endothel sind die Inflammation, die Prokoagulation, der Zelltod und eine Zellproliferation und diese Effekte führen zu oben genannten histologischen Bildern der aAMR. Die Effekte können mit und ohne Beteiligung des Komplementsystems auftreten.<sup>47,49-51</sup> Natürlich ist anzunehmen, dass verschiedene Schädigungsmechanismen auch parallel ablaufen.

## **2.2.6. Aktivierung des Komplementsystems mit Inflammation, Koagulation und Zelltod**

Wird das Komplementsystem über einen Antikörper aktiviert, so wird die Komplementaktivierung als klassisch bezeichnet. Bereits ein einzelnes Immunglobulin, das an ein Antigen gebunden ist, reicht zur Komplementaktivierung aus.<sup>52</sup> Der initiale Schritt der Aktivierung erfolgt über die Bindung des Komplementfaktors C1 an das Fc-Fragment.<sup>51,53</sup> Hierbei ist gerade die Bindung der Untereinheit C1q zur Immungruppe als einleitendes Ereignis der Komplementkaskade relevant,<sup>54</sup> da dieses die Komplementkaskade durch die Spaltung von C4 einleitet. Neben der Spaltung von C4 in C4a und C4b<sup>55</sup> kann nach einer Bindung des C4bs an das Endothel dort ein kovalent gebundener Rest, das C4d, haften bleiben.<sup>51,56</sup> C4d kann als Marker einer stattgehabten Komplementkaskade wegen der kovalenten Bindung immunhistochemisch und immunfluoreszenztechnisch angefärbt und dargestellt werden. Diese Anfärbbarkeit ist auch in der Banff-Klassifikation als Diagnosekriterium der AMR enthalten.<sup>8</sup> Alternativ kann das C4b zusammen mit dem ebenfalls durch ein C1-Fragment gespaltenen C2a die C3-Konvertase bilden (C4bC2a). Diese spaltet C3 in C3a und C3b. Das C3b wird wiederum Bestandteil des C4bC2a Komplexes und darüber dann zur C5-Konvertase, welche C5 in C5a und C5b spaltet.<sup>51,57</sup> Die verschiedenen Komplementspaltprodukte wie beispielsweise C3a,<sup>58</sup> C3b, C3d,<sup>59</sup> C5a<sup>58,60,61</sup> und C5b haben bereits proinflammatorische, prokoagulatorische und regulatorische Wirkungen<sup>12,57,62,63</sup>. Über C5b kann zusammen mit C6-C9 aber auch abschließend eine Makropore gebildet werden, der Membran-Attacken-Komplex (MAC), welcher zur direkten Zellschädigung und zum Zelltod führen kann.<sup>12,62</sup> Auch an den glatten Muskelzellen, wie sie in der arteriellen Wand vorliegen, kann ein MAC entstehen und eine Inflammation triggern.<sup>64</sup>

## **2.2.7. Komplementunabhängige(r) Inflammation, Prokoagulation, Proliferation und Zelltod durch Antikörper**

Über eine Antikörperbindung können auch unabhängig des Komplementsystems Schäden verursacht werden.<sup>12</sup> Proinflammatorische Effekte entstehen durch verschiedene Leukozytenrekrutierungsmechanismen wie über eine Hochregulierung der Expression von Leukozytenadhäsionsproteinen wie endothelial leucocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) und intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1),<sup>65</sup> P-Selektin,<sup>66,67</sup> und Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)<sup>68</sup> oder über eine Hoch- beziehungsweise Herunterregulierung von der mRNA regulierenden microRNA (miRNA).<sup>69</sup> Eine antikörperinduzierte Zytotoxizität kann weiterhin über deren Interaktion mit anderen Immunzellen, insbesondere NK-Zellen, aber auch Makrophagen oder Granulozyten erklärt werden, diese werden als antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität (Antibody dependent cell-mediated cytotoxicity = ADCC) zusammengefasst.<sup>70,71</sup> Des Weiteren können über Antikörper prothrombotische Effekte resultieren.<sup>12</sup> Einerseits können sie die Flussgeschwindigkeit von Thrombozyten am Endothel verlangsamen,<sup>72</sup> eine Hochregulierung von P-Selektin auf den Thrombozyten verursachen<sup>72</sup> oder eine Sekretion des prokoagulatorischen von Willebrand-Faktors bewirken.<sup>66,67</sup> Auch kann

ein im Rahmen einer AMR verändertes Transkriptom oder die Hoch- oder Herunterregulierung von verschiedenen Transkriptionsfaktoren eine vermehrten Koagulation begünstigen.<sup>73</sup> Auch könnte es im Rahmen der AMR/durch Antikörper zu einem direkten Zelltod kommen,<sup>74</sup> in vitro konnten verschiedene Formen des Zelltods durch eine (HLA-)-Antikörperbindung an Endothelzellen und SMC induziert werden.<sup>75,76</sup> Mechanistisch könnten veränderte Abwehr- und Überlebenssignale auf endothelialer Ebene<sup>77</sup> oder die Hoch- oder Herunterregulierung von (anti-)apoptotischen Genen oder Mediatoren<sup>77,78</sup> verschiedene Formen des Zelltodes im Rahmen einer AMR erklären. Schließlich wird auch eine antikörpervermittelte Zellproliferation diskutiert, welche die Endothelzellen, aber auch die SMC betreffen könnte.<sup>47</sup> Belege durch in vitro Studien zeigen, dass insbesondere die HLA-Antikörper vermittelte Aktivierung von focal adhesion kinase (FAK)<sup>79</sup> und die Hochregulierung von fibroblast growth factor receptor (FGFR)<sup>80</sup> für die Proliferation von SMC oder Endothelzellen eine Rolle spielen dürften. Verstärkende Effekte könnten durch Interferon- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  hinzukommen.<sup>80</sup> Auch der Sphingomyelin/Ceramid Signalweg könnte durch HLA-Antikörper aktiviert werden und zu einer Zellproliferation führen.<sup>81,82</sup>

## 2.2.8. Effekte der aktiven AMR *in vivo*

Multiple Beobachtungsstudien bestätigen *in vivo* eine Inflammation nach MHC-inkompatibler Organtransplantation, wobei hier neben der Niere auch am Herzen vermehrt Studien zur Pathophysiologie der AMR durchgeführt wurden. In solchen Beobachtungsstudien gelingen aber nur indirekt Rückschlüsse über die Pathogenese der Abstoßungsreaktionen, da „nur“ beobachtet und nicht induziert wird. Im Tiermodell fanden sich als Korrelate der AMR eine Arteritis und die mikrovaskuläre Inflammation wieder.

Eine Arteritis konnte nach MHC-inkompatibler Nierentransplantation an Affen<sup>18</sup> und Mäusen<sup>83</sup> und nach Herztransplantation, hier mit prädominierender T-Zell Infiltration an Mäusen<sup>84</sup> gezeigt werden. Teils lag auch eine transmurale Entzündung der Arterien mit einer Mediainvagination der Leukozyten vor.<sup>84</sup> In Affen konnte eine Glomerulitis, im Sinne von Leukozytenansammlungen in den glomerulären Kapillaren mit teilweiser Endothellschwellung nach MHC-inkompatibler Nierentransplantation beobachtet werden.<sup>18,85,86</sup> Diese korrelierte mit dem Nachweis von C4d,<sup>85,86</sup> HLA-Antikörpern<sup>85,86</sup> und einer Transplantglomerulopathie.<sup>86</sup> In einer anderen Beobachtungsstudie an Schweinen zeigte sich nach MHC-inkompatibler Nierentransplantation auch eine Glomerulitis.<sup>87</sup>

Studien, die an B-Zell und T-Zell defizienten Tieren durchgeführt wurden und nach Organtransplantation eine HLA Antikörper Exposition herbeiführen, können eher belegen, dass verschiedene Läsionen durch die injizierten Antikörper entstehen.

In T- und B-Zell defizienten Mäusen konnte eine Arteritis nach HLA-Antikörpergabe induziert werden. Dies gelang sowohl durch nicht-komplement-aktivierende Antikörper als auch in zusätzlich C3 defizienten Mäusen, sodass die Arteritis hier auch komplementunabhängig induziert werden konnte.<sup>88</sup> Für die Entstehung der Arteritis ist nach den Ergebnissen einer Studie aber mindestens eine T-Zell Unterstützung nötig, da in T-Zell defizienten, aber B-Zell kompetenten Mäusen nach MHC-inkompatibler Nierentransplantation ohne Antikörperinjektion keine Arteritis entstand.<sup>83</sup>

Die Entstehung einer Glomerulitis konnte in Rattennieren durch HLA-Antikörper induziert werden. Die Tiere waren athym; entsprechend fehlte ihnen ein kompetentes T-Zell Immunsystem.<sup>89</sup> Weiterführende Studien, die eine HLA-antikörpervermittelte Entstehung der Glomerulitis und peritubulären Kapillaritis oder TMA allein durch Antikörper beispielsweise an T- und B-Zell defizienten Tieren *in vivo* belegen, fehlen.

Mechanistisch sprechen auch Tiermodelle für die in den Zellkulturen aufgeführten proinflammatorischen Mechanismen. Es konnte beispielsweise in B- und T-Zell defizienten Mäusen nach Herztransplantation eine signifikant höhere intravaskuläre monozytäre Infiltration nach HLA-Antikörper-Gabe als nach Kontroll-Antikörpergabe gezeigt werden. Analog zu den Zellkulturexperimenten war der Effekt am ehesten Selektin-vermittelt, da er durch einen Selektin-Antagonist verringert werden konnte.<sup>67</sup>

Auch spricht eine erhöhte mRNA Expression der Zytokine MCP-1, IL-6 und IL-1-alpha in Ig-Knock-Out-Mäusen nach passivem HLA-Antikörpertransfer für eine durch diese Zytokine verursachte erhöhte Inflammation.<sup>68</sup>

*In vivo* Studien sprechen auch für einen antikörpervermittelten direkten Zelltod und eine mögliche Zellproliferation. Hier spricht der Nachweis von TdT-mediated dUTP-biotin Nick-End Labeling (TUNEL)-positiven Endothelzellen an thymektomierten Schweinen nach MHC-inkompatibler Nierentransplantation für deren Apoptose. Diese traten aber zusammen mit einer glomerulären Endothelzell-PCNA-Positivität auf, was für eine mögliche gleichzeitige Proliferationen dieser Zellen spricht.<sup>87</sup> Auch *in vivo* sprechen Studien für die Aktivierung des Sphingomyelin/Ceramid Signalwegs durch HLA-Antikörper mit proproliferativen Effekten.<sup>81,82</sup>

## **2.2.9. Effekte der aktiven AMR am Menschen**

Studien an menschlichen Biopsien bestätigen durch die Assoziation der klinischen Bilder mit HLA-Antikörpern, dass proinflammatorische, prokoagulatorische und zytotoxische Effekte durch diese entstehen.<sup>6</sup> So korrelieren HLA-Antikörper mit einer Arteriitis,<sup>90,91</sup> Glomerulitis,<sup>90-92</sup> peritubulären Kapillaritis<sup>90-92</sup> und TMA<sup>91</sup>. HLA-Antikörper korrelieren auch mit dem Komplementspaltprodukt C4d.<sup>93,94</sup> C4d korreliert ebenso mit einer mikrovaskulären Inflammation<sup>93-98</sup> und mit einer Arteritis<sup>98,99</sup>. Insgesamt sind DSA,<sup>36,90,93,94</sup> C4d<sup>93,94</sup> und C4d auch in Kombination mit einer MVI und vaskulären Abstoßung,<sup>100</sup> und DSA in Kombination mit einer MVI<sup>36</sup> mit einer schlechteren Prognose assoziiert. Eine Studie zeigt für eine AMR mit „vaskulärer Beteiligung“ das schlechteste Transplantatüberleben im Vergleich zu einer AMR ohne vaskuläre Beteiligung oder einer TCMR mit oder ohne vaskulärer Beteiligung.<sup>101</sup>

## **2.3. Chronische Effekte der AMR: Transplantarteriopathie, Transplantglomerulopathie und peritubuläre Kapillaren Basalmembran Multilamellierung**

Neben den akuten Effekten der Antikörper resultierten als Chronizitätszeichen der humoralen Abstoßung sklerotische und fibrotische Veränderungen.

Hierbei geht man davon aus, dass das Korrelat einer chronischen oder stattgehabten Glomerulitis eine Transplantglomerulopathie (TG), das Korrelat der chronischen oder stattgehabten peritubulären Kapillaritis eine peritubuläre Kapillaren Basalmembran Multilamellierung (PTCML), und das Korrelat der chronischen oder abgelaufenen Arteritis die Transplantarteriopathie ist.

TG und PTCML gehen beide mit einer Basalmembranaufsplitterung einher, bezogen auf die PTCML wird dies rein elektronenmikroskopisch ausgewertet, eine TG wird primär lichtmikroskopisch diagnostiziert, nur das früheste Stadium kann elektronenmikroskopisch diagnostiziert werden.

Für die Diagnose einer TG reicht nach Banff bereits die Aufsplitterung der Basalmembranen von 3 glomerulären Kapillaren in mindestens 2 Schichten aus. Dies darf für eine cg1a Läsion nur elektronenmikroskopisch zu sehen sein, wobei dies die mildeste Form des cg-Scores für die Schweregradbemessung der TG ist. Die Aufsplitterung sollte elektronenmikroskopisch von einer endothelialen Schwellung und oder von einer subendothelialen Erweiterung begleitet sein. Für eine TG im Schweregrad von cg 1b-3 zählt der Anteil der aufgesplitterten Basalmembranen lichtmikroskopisch. Für einen cg1b Score fordert Banff eine Aufsplitterung der Basalmembranen von 1-25% der glomerulären Kapillaren im am schwersten betroffenen Glomerulus. Für einen cg2 Score sind 25-50% der Basalmembranen der Kapillarschlingen

betroffen und für einen cg3 Score sind über 50% der Basalmembranen der Kapillarschlingen aufgesplittert.<sup>8,10</sup>

Für eine PTCML fordert Banff eine zirkumferente Lamellierung einer peritubulären Kapillarbasalmembran von mindestens 7 Schichten, oder bei 3 oder mehr peritubulären Kapillarbasalmembranen eine 5 oder 6-fache Lamellierung. Für die PTCML existiert kein Banff-Score. Sie ist bei den „additional diagnostic parameters“ aufgeführt und wird im Terminologieglossar definiert.<sup>10,102,103</sup>

Die TXA ist in der Banff-Klassifikation nur noch Diagnosekriterium der TCMR und wird auch in den „additional diagnostic parameters“ definiert. Hier ist sie für die chronisch aktive TCMR Grad II (caTCMR Grad II), dort als einziges diese Diagnose definierendes Kriterium aufgeführt. Für die caTCMR Grad II ist sie als arterielle Intimafibrose mit einer zwingend vorliegenden mononukleären Infiltration und der Formation einer Neointima definiert.<sup>8,10</sup> Die frühere Definition der AMR-assoziierten TXA in der letzten Banff-Klassifikation und in den noch früheren Klassifikationen wird im Speziellen in Kapitel 2.9. der Einleitung aufgeführt.

Unabhängig der Diagnosekriterien der TCMR/AMR-assoziierten TXA wird in der Banff-Klassifikation der cv-Score ausgewertet. Der cv-Score definiert im Allgemeinen das Vorhandensein einer arteriellen Intimaverbreiterung in der am schwersten betroffenen Arterie. Für einen cv1 Score ist das Lumen durch die Intimaverbreiterung um maximal 25% eingeengt, für einen cv2 Score zwischen 26-50% und für einen cv3 Score über 50%.<sup>8,10</sup> Der Score kann ohne die Diagnose einer TCMR/AMR-TXA positiv ausfallen, wenn entsprechende Differentialdiagnosen ihn positiv werden lassen.<sup>8,10</sup>

Über die TG, PTCML und TXA hinaus, können als unspezifisches gemeinsames Endstreckenkorrelat der Abstoßungsreaktionen eine Tubulusatrophie, interstitielle Fibrose (IFTA) der Nierenrinde und eine fokale und segmentale Glomerulosklerose (FSGS) entstehen, welche aber aufgrund der jeweils fehlenden Spezifität nicht als Diagnosekriterium der AMR gelten.<sup>8,10</sup>

### **2.3.1. Effekte der chronisch (aktiven) AMR *in vivo***

In Tiermodellen ist analog zum Menschen die Entstehung der TG, PTCML und TXA insbesondere in Herz- und Nierentransplantaten als Korrelate einer chronisch (aktiven) AMR gezeigt worden.

Beobachtungsstudien *in vivo* demonstrieren die Entstehung einer TG nach MHC inkompatibler Nierentransplantation in Affen,<sup>86</sup> und nach MHC-inkompatibler Nierentransplantation in Schweinen mit vorangegangener Glomerulitis.<sup>87</sup> Hierbei korrelierte die TG auch mit C4d und DSA.<sup>85</sup> Auch konnte eine TG nach Antikörpergabe in Ratten induziert werden, welche bei

Athymie über kein immunkompetentes T-Zell-System verfügten.<sup>89</sup> Auch eine PTCML wurde nach MHC inkompatibler Nierentransplantation in Affen beobachtet.<sup>86</sup>

Multiple Beobachtungsstudien belegen *in vivo* die Entstehung einer TXA nach MHC-inkompatibler Organtransplantation.

In Affen korrelierte sie hierbei in Nierentransplantaten mit einer Arteritis, C4d, DSA, einer Glomerulitis und einer TG und ging mit einem kürzeren Transplantatüberleben einher.<sup>86</sup>

*In vivo* werden hierbei auch verschiedene histologische Merkmale hervorgehoben.

Speziell die leukozyteninfiltrierte TXA wurde nach Nierentransplantation an Affen<sup>18,85</sup>, und nach Herztransplantation an Mäusen,<sup>84,104</sup> sowie nach Arterientransplantation an Mäusen beobachtet.<sup>105</sup>

Die Leukozyteninfiltrate bestanden teils aus T-Zellen,<sup>18,84,106</sup> teils aus Makrophagen<sup>104,106</sup> und seltener aus B-Zellen.<sup>18</sup> Speziell schaumzellige Intimainfiltrate mit einer arteriellen Intimaverbreiterung wurden nach Nierentransplantation in Affen beschrieben.<sup>18</sup> Auch am ehesten schaumzellige Intimainfiltrate mit Lipideinlagerungen wurden nach Herztransplantation in Schweinen beschrieben.<sup>107</sup>

Die hypoelastotische TXA konnte nach MHC-inkompatibler Nierentransplantation in Affen beobachtet werden.<sup>18</sup>

Auch *in vivo* spricht eine Studie, in der ICAM-1 und lymphocyte function-associated antigen-1 (LFA-1) durch eine Antikörpergabe blockiert werden und dadurch die Entstehung von arteriellen Intimaverbreiterungen in Mäuseherztransplantaten verhindert wird, für eine Entstehung der arteriellen Intimaverbreiterungen unter Beteiligung der Zelladhäsionssysteme.<sup>108</sup> Auch Interferon- $\gamma$  scheint eine Rolle in ihrer Entstehung zu spielen, da Interferon- $\gamma$ -defiziente Mäuse nach MHC inkompatibler Herztransplantation keine TXA entwickeln.<sup>109</sup> Insgesamt wird aber die Beteiligung von verschiedenen Zytokinen und Chemokinen in der AMR und TXA angenommen und weiter untersucht.<sup>12</sup>

Eine Abgrenzung, welcher Abstoßungsmechanismus in den Beobachtungsstudien zugrunde gelegen hat, ist nicht abschließend möglich, auch wenn eine Korrelation oder das gleichzeitige Auftreten einer TXA mit einer C4d Positivität,<sup>18,85,106</sup> HLA-Antikörpern,<sup>85,106</sup> Glomerulitiden<sup>18,85</sup> und einer TG<sup>85</sup> eine AMR als zumindest mitursächlich wahrscheinlich macht. Eine TCMR oder andere Immunzellen könnten aber durchaus beteiligt gewesen sein.

Interventionsstudien an T- und B-Zell defizienten Tieren bestätigten die Entstehung einer TXA durch eine AMR mittels der Gabe von HLA-Antikörpern.

Eine TXA konnte nach Herztransplantation und HLA-AK Gabe in B- und T-defizienten Mäusen und auch in zusätzlich C3 defizienten Mäusen induziert werden.<sup>110</sup>

Speziell eine leukozyteninfiltrierte TXA zeigte sich nach HLA-Antikörper Injektion nach MHC-inkompatibler Herztransplantation in T- und B-Zell defizienten Mäusen mit gleichzeitigem Nachweis von C4d.<sup>106</sup> Auch eine zweite Studie bestätigte die Entstehung einer leukozyteninfiltrierten TXA in Mäusen nach Herztransplantation; hier war die Entstehung der TXA auch komplementunabhängig möglich; in einem ersten Experiment konnten Nicht-komplementbindende Antikörper eine TXA induzieren und in einem zweiten Experiment entwickelten C3-defiziente Mäuse ebenso eine TXA nach HLA-AK Exposition.<sup>88</sup> Auch in dieser Studie bestanden die Leukozyteninfiltrate teils aus T-Zellen, Makrophagen und seltener aus NK-Zellen.<sup>88</sup>

Speziell die Entstehung einer hypoelastotischen TXA wurde nach Herztransplantation in T- und B-Zell defizienten Mäusen gezeigt.<sup>88,106</sup>

### **2.3.2. Effekte der chronisch (aktiven) AMR am Menschen**

Studien zeigen, dass DSA mit einer TG und PTCML korrelieren,<sup>90</sup> wobei angenommen wird, dass es sich hierbei um das Korrelat der jeweiligen chronischen oder abgelaufenen Entzündung am Endothel der glomerulären oder peritubulären Kapillare handelt.

Diese These stützt, dass C4d positive Biopsien im Verlauf häufiger eine TG und PTCML entwickelten. C4d positive Biopsien zeigen aber auch an sich signifikant häufiger eine TG und PTCML.<sup>97</sup> Auch Biopsien mit vorheriger Glomerulitis zeigen im Verlauf signifikant häufiger eine TG,<sup>111</sup> Biopsien mit einer vorherigen peritubulären Kapillaritis zeigen im Verlauf signifikant häufiger eine PTCML.<sup>112</sup>

Verschiedene Arbeiten zeigen in menschlichen Biopsien eine Korrelation von arteriellen Intimaverbreiterungen und dem Nachweis von DSA, C4d und anderen histologischen AMR-Zeichen.

Eine Arbeit zeigte, dass arterielle Intimaverbreiterungen, die über einen erhöhten cv-Score, also einer reinen arteriellen Lumeneinengung definiert waren, mit DSA, C4d und einer MVI korrelieren.<sup>98</sup> Auch eine andere Studie zeigte eine Korrelation einer TXA mit DSA, C4d und einer MVI, wobei diese nach der Banff Klassifikation von 2009 als arterielle Intimafibrose definiert wurde.<sup>99</sup>

Auch am Menschen wird die TXA in verschiedenen Arbeiten morphologisch unterschiedlich beschrieben und eingegrenzt.

### **2.3.3. Elastische Fasern und TXA**

Im Rahmen der wissenschaftlichen Herausarbeitung der cAMR und caAMR wurde die AMR-assoziierte arterielle Intimaverbreiterung am Menschen in verschiedenen Übersichtsarbeiten als hypoelastotisch beschrieben<sup>11-14</sup> und wird dies auch in manchen aktuelleren Arbeiten weiterhin.<sup>12</sup> Primärarbeiten, die eine genaue Subklassifizierung arterieller Veränderungen in

Transplantatnierenbiopsien herausarbeiten, werden aber nicht genannt. Durch das Kriterium der Hypoelastizität sollte unter anderem eine Abgrenzung zur Differentialdiagnose der Arteriosklerose sichergestellt werden.<sup>11-14</sup>

Bis dato fehlt eine Aufarbeitung, ob hypoelastische arterielle Intimafibrosen mit anderen Zeichen einer AMR korrelieren und ob dieser TXA-Subtyp eher einer AMR zugeordnet werden muss.

Eine Arbeit an einem kleineren Biopsiekollektiv weitgehend ohne DSA-Daten zeigt zumindest, dass eine nicht-fibroelastisch verbreiterte arterielle Intimaverbreiterung in Biopsien mit zusätzlicher TG mit einer schwereren Lumeneinengung einhergeht, als bei Arterien mit einer fibroelastischen Lumenverbreiterung.<sup>113</sup>

Drei andere Arbeiten belegen andererseits, dass auch nicht-hypoelastische Intimaverbreiterungen mit anderen Diagnosekriterien einer AMR korrelieren.

Eine Arbeit zeigt, dass eine „Arteriosklerose“ in ihrem Fortschreiten nicht nur mit präformierten donorspezifischen Antikörpern, sondern auch mit C4d und einer mikrovaskulären Inflammation korreliert. Eine morphologische Beschreibung solcher arteriosklerotischen Veränderungen erfolgte in dieser Arbeit allerdings nicht.<sup>111</sup> Auch eine zweite Arbeit zeigt, dass ein höherer Banff-cv-Score, der die Einengung des Lumens der am schwersten betroffenen Arterie quantifiziert, mit (komplementaktivierenden) DSA, einer mikrovaskulären Inflammation, C4d, aber auch mit anderen kardiovaskulären Risikofaktoren korreliert. Auch hier bezeichneten die Autoren diese Veränderungen als „Arteriosklerose“. Eine schwere „Arteriosklerose“ korrelierte in dieser Arbeit mit einem schlechteren Transplantatüberleben, aber auch mit einem schlechterem Gesamtüberleben und einer erhöhten Inzidenz kardiovaskulärer Ereignisse.<sup>114</sup>

Eine dritte Arbeit konnte sogar einen deutlich stärkeren Progress von „arteriosklerotischen Veränderungen“ bei DSA-positiven Biopsien im Vergleich zu DSA-negativen Biopsien herausarbeiten. Auch hier korrelierte das Fortschreiten der „Arteriosklerose“ mit einer mikrovaskulären Inflammation (Glomerulitis und peritubulären Kapillaritis) und C4d. In dieser Arbeit wiesen die Autoren explizit darauf hin, dass die arterielle Intimaverbreiterungen, welche als „Arteriosklerose“ bezeichnet wurden, auch hyperelastischen Anteilen aufwiesen und nicht ausschließlich hypoelastisch waren, allerdings ohne genauere Quantifizierung.<sup>15</sup> Durch diese drei Arbeiten wird klar, dass hyperelastische Intimaverbreiterungen eine AMR-assoziierte TXA nicht ausschließen und somit bei einer Hyperelastose nicht sicher von einer reinen Arteriosklerose ausgegangen werden kann. Aufgrund der Ähnlichkeit solch elastischer arterieller Veränderungen zur Arteriosklerose besteht hier aber eine schlechtere morphologische Unterscheidungsmöglichkeit.

#### **2.3.4. Leukozyteninfiltration, Schaumzellen und TXA**

Neben den hyperelastischen Anteilen beschrieben die Autoren in der letztgenannten Arbeit aber auch eine Hyperzellularität der arteriellen Intimaverbreiterung, welche in den Augen der

Autoren als gutes Abgrenzungsmerkmal zu den Intimaverbreiterungen bei nicht DSA-positiven Biopsien diente. Die Hyperzellulärität schien hier gemischtzelliger Natur zu sein, da sie neben Leukozyten auch aus alpha-SMC positiven Myofibroblasten bestand.<sup>15</sup> Es erfolgte in dieser Arbeit auch keine Aussage über die Quantität der Arterien mit hyperzellulärer arterieller Intimafibrose.<sup>15</sup>

Speziell das Vorliegen von arteriellen Intimaverbreiterungen mit Leukozyteninfiltrationen wurden darüber hinaus an zwei aufeinander folgenden Arbeiten einer Arbeitsgruppe untersucht. Die Autoren schlugen in der ersten Arbeit 56% ihrer TXA-Fälle mit hier schaumzelliger oder mononukleärer Infiltration durch das gleichzeitiges Auftreten anderer AMR-Parameter (MVI, TG, PTCML, DSA) der AMR zu.<sup>16</sup> In der zweiten Arbeit waren dies durch das gleiche Auftreten von AMR-Parametern (MVI, TG, PTCML, DSA) 34%, wobei hier die TXA eine obligate leukozytäre Infiltration ohne weitere Subklassifizierung aufweisen musste.<sup>17</sup> Differentialdiagnosen, denen eine TXA zugeschlagen wurde, erreichten in beiden Arbeiten nur einen kleineren Portionsanteil.<sup>16,17</sup>

Eine Studie an einer kleinen Biopsiekohorte mit weitgehend fehlenden DSA-Daten zeigt aber auch, dass speziell durch CD3-, CD8-, CD68 und Schaumzell-infiltrierte TXAen bei Patienten mit einer TG zu finden sind und sogar einen verschlechternden Effekt auf das Outcome haben können.<sup>113</sup> In einer anderen Studie wurden TXAen mit mononukleäre und schaumzelligen Intimainfiltraten beschrieben, bei denen bei ungefähr zwei Dritteln auch eine C4d Positivität bestand.<sup>115</sup> Eine weitere Beschreibung der TXA mit Schaumzellinfiltraten erfolgte in einer älteren Arbeit, die die Prognoserelevanz und das Therapieansprechen von Biopsien mit arteriellen Veränderungen herausarbeitete.<sup>116</sup> In solchen älteren Arbeiten erfolgte aber noch keine Differenzierung zwischen Biopsien mit einer TCMR und AMR.

Auch bezüglich der leukozyteninfiltrierten und schaumzelligen TXA fehlen Arbeiten, die deren Auftreten quantifizieren und untersuchen, ob diese TXA-Unterformen häufiger mit Zeichen einer AMR korrelieren und dadurch eher einer AMR zuzuordnen sind.

## 2.4. TCMR – Arteritis und TXA

Die Zuordnung der Arteritis und der TXA zur AMR wird auch dadurch erschwert, dass diese auch durch die TCMR, welche von der Banff-Klassifikation als mechanistisch zweite mögliche Abstoßungsreaktion abgegrenzt wird, entstehen können. Entsprechend wird die Arteritis und wurde die TXA als Hybdridläsion angesehen, also als Läsionen, welche durch beide Abstoßungsmechanismen entstehen können.

Eine Abgrenzung, ob die arterielle Abstoßung nur der TCMR zuzurechnen ist, oder ob sie auch im AMR Kontext zu werten ist, ist außerordentlich wichtig, da die TCMR assoziierte arterielle Abstoßung nur in geringerem Maße oder sogar gar keinen Einfluss auf das Transplantatüberleben hat.<sup>101</sup>

Auch ist es andersherum erschwert eine Zuordnung der TXA zur TCMR vorzunehmen, da die mechanistische Entstehung dieser durch eine TCMR auch nicht ausreichend verstanden ist. Diskutiert wird entweder ein direkter zytotoxischer Effekt der CD-8 positiven T-Zellen, andererseits auch ein eine lokale Zytokinfreisetzung durch T-Zellen.<sup>12</sup>

### 2.4.1. TCMR-Arteritis *in vivo*

*In vivo* ist die Entstehung einer Arteritis allein durch T-Zellen antikörperunabhängig belegt.

An allein B-Zell-defizienten, aber T-Zell kompetenten Mäusen zeigte sich nach MHC-inkompatibler Nierentransplantation eine Arteritis. Diese fiel im Vergleich zur Arteritis bei immunkompetenten, also B- und T-Zell kompetenten Tieren nach MHC-inkompatibler Nierentransplantation schwächer aus.<sup>83</sup> Auch eine andere Arbeit belegte die Entstehung einer Arteritis in allein B-Zell-defizienten, aber T-Zell-kompetenten Mäusen nach Herztransplantation<sup>117</sup>. Auch konnte eine Arteritis nach CD8+-T-Zell-Injektion in T- und B-Zell-defizienten Mäusen nach Herztransplantation beobachtet werden.<sup>118</sup>

### 2.4.2. TCMR-TXA *in vivo*

Ob eine TXA *in vivo* allein durch eine TCMR entstehen kann, ist in der Literatur schlechter untersucht, wird aber mehrheitlich so verstanden und interpretiert.

Zwar kann in vorgestellten Beobachtungsstudien *in vivo*<sup>18,84,85,104,105</sup> zur Entstehung der TXA nicht sicher unterschieden werden, ob die TXA durch eine AMR, TCMR oder sogar andere Differentialdiagnosen entstanden ist, aber zumindest dokumentierte eine Studie parallel zur TXA auch eine interstitielle Inflammation.<sup>85</sup>

Speziell die Entstehung einer hypoelastotischen TXA durch T-Zellen wurden an T- und B-Zell defizienten Mäusen untersucht. Nach MHC- inkompatibler Herztransplantation zeigte sich in einer Maus nach einer Tc1-CD8-Zellinfiltration eine hypoelastotische TXA in 2 Arterien, die neben einer interstitiellen Abstoßung beobachtet wurde. Da der Tc1-Subtyp die TXA auslöste,

könnte dies für eine TXA-Entstehung durch eine T-Zellvermittelte Zytotoxizität sprechen.<sup>118</sup> Da aber nur zwei Arterien in einer Maus diese Veränderungen aufwiesen, kann hieraus nicht sicher gefolgt werden, dass diese wirklich T-Zell/CD8vermittelt aufgetreten sind, andere Differentialdiagnosen könnten auch in diesem Tier vorgelegen haben.

Eine anderen Beobachtungsstudie, die eine gegengeschlechtlich murine Herztransplantation untersuchte, zeigte leukozyteninfiltrierte TXAen. In diesem Modell sollte aufgrund der fehlenden Unterschiede in den HLA-Merkmalen keine anti-HLA-DSA-Produktion vorliegen, dementsprechend werden die Ergebnisse so interpretiert, dass nur eine T-Zell-medierte Abstoßung als Abstoßungsmechanismus infrage kommt und ursächlich für die TXA ist. Diese These unterstützend konnten hier weder DSA noch C4d nachgewiesen werden. Die Autoren räumten aber selbst ein, dass DSA fälschlicherweise durch die vorgenommenen CDC-Assays und Flowcytometrie Assays nicht nachweisbar gewesen sein könnten. Möglicherweise könnten auch auf dem Y-Chromosom nicht-HLA-Antigene bestanden haben, die über Antigen-präsentierende Zellen erkannt wurden und eine Nicht-HLA-Antikörperproduktion nach sich hätten ziehen können.<sup>106</sup> Eine hier vorliegende C4d-Negativität ist an sich auch nicht ausreichend, um eine AMR auszuschließen, da das Fehlen von C4d nicht sicher eine AMR ausschließen kann.<sup>119</sup> Auch Differentialdiagnosen oder die Entstehung durch andere Leukozyten ohne Antikörperbeteiligung sind in solchen Beobachtungsstudien nicht auszuschließen. Da aber eine TCMR im Gesamtkontext am wahrscheinlichsten für die Entstehung der TXA ist, wird diese Studie als Bestätigung für eine T-Zellvermittelte TXA interpretiert.<sup>12</sup>

Die oben genannten Argumente müssen ebenso für die Interpretation der Entstehung von leukozyteninfiltrierten TXAen an Herztransplantaten in Mäusen berücksichtigt werden, die sich nur durch Nicht-HLA-Merkmale unterscheiden,<sup>84</sup> auch hier könnte eine Nicht-HLA-Antikörper-Produktion oder Differentialdiagnosen die beobachteten TXAen verursacht haben, aber eben auch eine TCMR.

In einer Arbeit an T- und B-Zell defizienten Mäusen, die darauf abzielte die Relevanz der NK-Zell-Antwort für die Entstehung der TXA herausarbeiteten, zeigte aber im gleichen Zug, dass eine alleinige NK-Zell Antwort ohne T-Zell-Addition nicht zur Entstehung der TXA ausreichte. Eine TXA konnte hier nach erneuter Transmission von T-Zellen in T- und B-Zell defiziente Mäusen mit NK-Zell Abstoßung reinduziert werden. Die transferierten T-Zellen zeigten sich in der weiteren Aufarbeitung aber nicht als spezifisch für das Transplantat; es handelte sich um CD4 positive T-Zellen, sodass die Autoren aufgrund der Helfer-Zell-Differenzierung von einer NK-Zell-unterstützenden Aufgabe der T-Zellen ausgingen und nicht von einer allein T-Zell medierten Entstehung der TXA durch eine zytotoxische Antwort dieser T-Zellen.<sup>120</sup>

Auch eine weitere Studie unterstreicht die Relevanz der T-Zellen in der Entstehung der TXA. In MHC-inkompatibel transplantierten Mäusen konnte durch eine nahezu komplette CD8- und CD4- T-Zell Depletion die Entstehung einer TXA nach Herztransplantation verhindert werden. Auch in dieser Studie wäre dies einerseits durch eine fehlende Zytotoxizität der Zellen zu erklären, andererseits könnte auch eine Antikörperproduktion durch fehlende T-Helferzellen ausgeblieben sein.<sup>109</sup> Insgesamt belegen diese Arbeit aber eine B-Zell unabhängige und T-Zell abhängige Entstehung der TXA *in vivo*.

Diese scheinbare Wichtigkeit der nötigen T-Helfer-Zell-Funktion stützt auch eine andere Studie an chimären Ratten. Spätere Herztransplantatspenderratten erhielten vor der Organentnahme von den späteren Empfängern eine Knochenmarktransplantation. Bevor die Herztransplantation in die Empfängerratten erfolgte, waren diese thymektomiert worden. Nach der Herztransplantation entstand in diesen chimären, thyektomierten Ratten eine TXA. Diese konnte aber durch eine zusätzliche CD4-Zell-Depletion in den Empfängern verhindert werden, durch eine CD8 Zell-Depletion gelang dies nicht.<sup>121</sup>

Ein anderes Mäusemodell an rein B-Zell defizienten, aber T-Zell kompetenten Mäusen spricht darüber hinaus aber gegen eine alleinige T-Zell Suffizienz zur Entwicklung einer TXA. Nach MHC-inkompatibler Herztransplantation kam es hier nur zur Endothelialitis. Die Autoren wiesen hier auf das Fehlen von einer begleitenden Kollagendisposition hin, anders als in B- und T-Zell kompetenten Tieren und werteten die Ergebnisse als reine Endothelialitis ohne TXA-Entstehung. Eine dann vorgenommene HLA-Antikörperinjektion konnte hier sogar typische TXA-Befunde, ähnlich der TXA in T- und B-Zell-defizienten Mäusen reinduzieren.<sup>117</sup> Des Weiteren zeigte diese Studie auch, dass immunkompetente Mäuse, bei denen eine Herztransplantation vorgenommen wird und die sich nur in den Nicht-Major-Histokompatibilitäts-determinierenden Antigenen unterscheiden und bei denen somit zumindest weder eine HLA-Antikörpervermittelte AMR, noch eine Aktivierung der T-Zellen über die HLA-Mismatch zu erwarten ist, ebenso keine TXA entwickelten.<sup>117</sup>

Ein weiteres Argument für die Entstehung der TXA durch T-Zellen *in vivo* ist die räumliche Präsenz der CD4- und CD8-positiven T-Zellen in der intimalen Verbreiterungszone,<sup>18,84,106</sup> welche suggeriert, dass diese Zellen dort auf unterschiedliche Weise an der Entstehung der (leukozyteninfiltrierten) TXA mitwirken.

Weiterführende *in vivo* Studien, die belegen, dass T-Zellen allein eine (hypoelastotische, leukozyteninfiltrierte oder schaumzellige) TXA verursachen können, sind der Autorin nicht bekannt. Es bedarf weiterführender Studien, damit die Rolle der T-Zellen in der Genese der TXA *in vivo* noch besser verstanden werden kann.

#### **2.4.3. TCMR-Arteritis in menschlichen Biopsien**

Insgesamt ist die Entstehung einer Arteritis und auch der TXA durch eine TCMR in der Literatur anerkannt, was durch Studien am Menschen untermauert wird.

Auch dadurch, dass angenommen wird, dass die TXA in der Sequenz nach einer Endarteritis als Chronizitätszeichen<sup>122-124</sup> resultiert, sollte eine TXA eben auch durch die vormals bestandene TCMR verursachte Arteritis entstehen können. Die Endothelialitis mit T-Zell Akkumulation könnte an sich bereits die Formation einer Neointima mit einer Schaumzellinfiltration triggern.<sup>123</sup>

Eine Studie, die durch eine Clusteranalyse Abstoßungssubtypen definierte, arbeitete eine TCMR mit „Vaskulitis“ auch als einen Subtyp heraus. Dies erfolgte durch das gleichzeitige Vorliegen anderer TCMR-Parameter. Allerdings war in der Studie eine Arteritis selten und nur 9% der Biopsien wurden der TCMR mit Arteritis zugeordnet, diese Diagnose ging auch nicht mit einer verschlechterten Prognose einher.<sup>101</sup> In der Studie, welche den Progress der arteriellen Intimaverbreiterung am Menschen bei Patienten mit DSA herausarbeitete, zeigte zumindest bei „späten“ Biopsien auch bei DSA-negativen Patienten einen Progress der arteriellen Intimaverbreiterungen, wobei dieser in „früheren“ Biopsien noch nicht signifikant unterschiedlich ausfiel. Ein Progress der arteriellen Intimaverbreiterung korrelierte hier bei den DSA-positiven Biopsien auch mit einer interstitiellen Inflammation, Tubulitis und Borderline Abstoßung, eine akute TCMR tat dies aber nicht. Die Korrelation galt nicht für die DSA-negativen Patienten.<sup>15</sup>

Studien einer Arbeitsgruppe, die das Vorliegen von arteriellen Intimaverbreiterungen am Menschen untersuchten und mit AMR und TCMR Parametern korrelierten, schlugen immerhin 19%,<sup>16</sup> respektive 24%,<sup>17</sup> der Fälle durch das gleichzeitige Vorliegen einer Tubulitis und interstitiellen Inflammation einer TCMR zu.

Insgesamt wird die TCMR verursachte TXA als bestätigt angesehen, auch in der Banff Klassifikation ist diese ja Diagnosekriterium der chronisch aktiven TCMR (caTCMR) Grad II.<sup>8,10</sup>

Studien, die eine TXA im Rahmen einer TCMR am Menschen weiter subklassifizieren sind der Autorin nicht bekannt.

## 2.5. NK-Zellen und Makrophagen in der TXA-Entstehung

Aktuell wird diskutiert, ob es neben den unterschiedenen Abstoßungsmechanismen der AMR und TCMR auch anderweitige immunologische Mechanismen gibt, welche zu einer Abstoßungsreaktion führen können; die mechanistische Dichotomisierung der Abstoßungsreaktion mit der Einteilung in eine reine AMR und TCMR durch die Banff-Klassifikation wird infrage gestellt.<sup>6</sup>

Vor allem wird eine Beteiligung der NK-Zellen und der Makrophagen im Abstoßungsprozess hervorgehoben. Mechanistisch werden zwei Wege in der Abstoßungsbeteiligung abgegrenzt. Einerseits kommt es zu einer direkten Zelltoxizität der Zellen durch den „Missing-self“-

Mechanismus. Infolge der Erkennung von fehlenden körpereigenen MHC-1- Molekülen durch die Killer-Cell-Immunglobulin-Like-Rezeptoren (KIR) von NK-Zellen kann es zu einer Aktivierung der NK-Zelle kommen, welche dann durch die Freisetzung zytotoxischer Granula direkt zelltoxisch sein kann. Dieser Mechanismus kann antikörperunabhängig auftreten. Andererseits kann es zu einer Aktivierung anderer Immunzellen, wie NK-Zellen oder Makrophagen durch eine Interaktion mit dem Fc-Fragment des Antikörpers mit ihrem Fc-Rezeptor kommen. Effekte, die über diese Interaktion entstehen werden als antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität („antibody dependent cell-mediated cytotoxicity“ = ADCC) zusammengefasst.<sup>6</sup>

Bezüglich der Entstehung der TXA wird davon ausgegangen, dass NK-Zellen auch hier beteiligt sein können.

Eine Studie, die eine Herztransplantation von parenteralen Spendern auf semiallogenen F1 Hybrid Empfänger-Mäuse vornimmt, induziert eine alleinige NK-Zell Antwort durch das reduzierte Präsentieren von MHC 1 Molekülen, eine B- und T-Zell Antwort soll nicht entstehen. In solchen Empfängermausen fanden sich leukozytenfiltrierten TXAen, welche auch hier häufig Infiltrate aus Makrophagen und T-Lymphozyten aufwiesen. Auch konnten immunhistochemisch NK-Zellen im Infiltrat nachgewiesen werden. In dieser Studie zeigte sich allerdings eine T-Zell-Abhängigkeit der NK-Zell Antwort, da zusätzlich T- und B-Zell defiziente F1 Hybrid Empfänger keine TXA nach Transplantation aufwiesen. Erst eine T-Zell-Rückinjektion in die immundefizienten Tiere konnte eine TXA reinduzieren. Als Alternativhypothese zur NK-Zell-Rejektion wird von den Autoren auch eine T-Zellvermittelte Entstehung der TXA im parenteralen F1 Hybrid Setting diskutiert, diese Hypothese wird aber dadurch verworfen, dass die T-Zellen in der Aufarbeitung CD4 positiv ausdifferenziert waren und keine Spender-Spezifität zeigten.<sup>120</sup>

In Bezug auf die ADCC wird eine Teilabhängigkeit der antikörpervermittelten Entstehung der TXA durch NK-Zellen oder eine Verstärkung der TXA-Schwere durch NK-Zellen, insbesondere im Hinblick auf eine komplementunabhängige AMR, diskutiert.

In T- und B-Zell und C3-Knock-Out-Mäusen konnte bei gleichzeitiger Gabe einer NK-Zell-Depletion das Auftreten einer TXA nach DSA-Gabe in Herztransplantaten so stark gesenkt werden, dass es sich nicht mehr von den Mäusen ohne DSA-Gabe unterschied. Bei nicht-zusätzlich C3 defizienten T- und B-Knock-Out Mäusen kam es aber trotz NK-Zell-Depletion zur TXA, diese fiel aber morphometrisch schwächer aus als in nicht NK-Zell-depletierten Mäusen. Bei einer Gabe von F(ab')2-Antikörper-Fragmenten in T- und B-Zell Knockout-Mäusen zeigte sich auch nur eine signifikant schwächere TXA-Ausbildung nach Herztransplantation. Da eine NK-Zell Aktivierung über eine FC-Rezeptor-Interaktion erfolgen kann, könnte die schwächere TXA-Ausbildung ebenso über eine fehlende zusätzliche NK-Zell-

FC-Fragment-Interaktion erklärt sein, also eine fehlende ADCC. Gegen eine alleinige NK-Zell abhängige Entstehung der TXA sprach in der Studie, dass auch allein T-B- und NK-Zell Knockout-Mäuse in der Lage waren eine schwache TXA nach DSA Gabe auszubilden.<sup>110</sup> Weiterführend wurde diskutiert, ob die Entstehung der TXA unter NK-Zellen auch durch eine Virusinfektion getriggert werden kann, da T- und B-Zell-Knock-Out-Mäuse, welche virusinfiziert waren, eine TXA nach Herztransplantation entwickelten; dies war ohne Virusinfektion nicht der Fall. Virusinfizierte Mäuse, die auch noch zusätzlich NK-Zell defizient waren, entwickelten allerdings keine TXA mehr, was ebenso für eine NK-Zell-Beteiligung im Entstehungsprozess sprach.<sup>125</sup>

Eine Studie an menschlichen Biopsien spricht darüber hinaus klar für eine antikörperunabhängige Entstehung einer mikrovaskulären Inflammation durch NK-Zellen, wobei hier vor allem die Interaktion der NK-Zellen mit der Endothelzelle hervorgehoben wurde, sodass die Ergebnisse vermeintlich auch auf arterielle Endothelzellen übertragbar sein könnten. In der Studie wird die Hälfte aller untersuchten Biopsien ohne DSA, aber mit einer MVI einer NK-Zellvermittelten Abstoßung zugeschlagen. Einerseits zeigte eine genetische Analyse an diesen Patienten, dass Patienten mit einer DSA-negativen MVI signifikant häufiger eine genetisch vorhergesagte „Missing self“-Konstellation aufwiesen. Dies war der Fall, wenn die NK-Zelle und Endothelzellen jeweils inkompatible KIR-Rezeptoren und MHC-Moleküle aufwiesen, wodurch inhibitorische Signale an die NK-Zellen fehlten. Auch *in vitro* zeigte sich ein signifikant schlechteres Endothelzell-Überleben nach deren Inkubation mit NK-Zellen bei solch einer genetisch vorhergesagten „Missing self“-Konstellation im Vergleich zu einer Inkubation ohne „Missing self“-Konstellation. Auch *in vivo* konnte eine MVI nach Aktivierung der NK-Zellen durch eine milde Ischämie-Reperfusionsentzündung in MHC-1 Knock-Out Mäusen nach Herztransplantation induziert werden; andersherum konnte die Entstehung einer MVI nach NK-Depletion im gleichen Modell verhindert werden. Am ehesten war die die NK-Zell-Aktivierung hier mTORC1-abhängig.<sup>126</sup>

Darüber hinaus suggerieren Studien zu Transkriptprodukten bei Patienten mit einer AMR eine Beteiligung der Zellen am Abstoßungsprozess durch das häufige Vorliegen von NK-Zell-assoziierten Transkripten.<sup>127</sup>

Auch für eine NK-Zell-Rekrutierung durch Antikörper spricht, dass eine NK-Zell Infiltration mit einer MVI in AMR-Biopsien korreliert,<sup>128</sup> eine andere Studie zeigte eine stärkere Korrelation einer intramikrovaskulären NK-Zell Infiltration mit einer AMR als mit einer TCMR.<sup>129</sup>

Auch für Monozyten/Makrophagen und deren anderweitigen Differenzierungen wird eine Rolle im Rahmen der Ischämie-Reperfusion-Entzündung, der AMR, aber auch unabhängig der AMR

im Abstoßungsprozess diskutiert. Mechanistisch fungieren sie als antigenpräsentierende Zellen, sie können phagozytieren, Zytokine produzieren oder direkt zytotoxisch wirken.<sup>6</sup>

Die Studie zur Korrelation unterschiedlicher Leukozyten mit einer AMR oder TCMR zeigte auch, dass signifikant häufiger eine intravaskuläre Makrophagen-Infiltration bei AMR-Biopsien im Vergleich zu TCMR-Biopsien vorlag.<sup>129</sup>

Speziell für die TXA zeigte eine Studie, dass eine Makrophagendepletion nach MHC-inkompatibler Herztransplantation in Mäusen die Schwere einer entstandenen TXA um 70% abschwächen konnte.<sup>130</sup>

Insgesamt wird das häufig heterogene und individuell unterschiedlich zusammengesetzte Infiltrat bei Patienten mit einer DSA-positiven oder DSA-negativen AMR auch als Korrelat einer Beteiligung von unterschiedlichen Immunzellen an der Abstoßung und als Korrelat von vielschichtigeren Abstoßungsmechanismen als die alleinige AMR und TCMR gedeutet.<sup>6,129</sup> Aufgrund dieser teils überschneidenden und der teils neuen Erkenntnisse zu Immunantworten bei Abstoßungsreaktionen stellt sich die Frage, ob überhaupt (alle) Läsionen in das zweigliedrige Banff-Klassifikationssystem eingeordnet werden können.

## **2.6. Abstoßungsunabhängige Differenzialdiagnosen der arteriellen Intimaverbreiterung**

Erschwerend für die Einordnung einer arteriellen Intimaverbreiterung im Transplantat ist, dass auch nicht-abstoßungs-assoziierte Erkrankungen und Mechanismen zu einer arteriellen Intimaverbreiterung führen können. Dies spiegelt das limitierte Reaktionspotenzial einer Arterie wider. Differenzialdiagnosen sind insbesondere jegliche Vaskulitiden, das Skleromyxödem und die TMA mit der malignen Nephrosklerose, sowie eine reine Arteriosklerose.

Vaskulitiden der Mittel- und Kleingefäße (entsprechend der parenchymatösen Arterien der Niere) sind in der Akutphase generell durch schwerere fibrinoide Wandnekrosen mit Schrankenstörung, oft durch leukozytoklastische Infiltrate, chronisch durch eine transmurale Fibrose, charakterisiert.<sup>131</sup>

Die arteriellen Veränderungen bei leukozytoklastischen Vaskulitiden zeichnen sich durch eine verdickte Gefäßwand mit infiltrierenden neutrophilen Granulozyten im Rahmen einer nekrotisierenden Inflammation aus. Die polymorphkernigen Leukozyten können auch fragmentiert mit destruuierten Kernen vorliegen, wodurch das Bild eines „Kernstaubs“, also der Leukozytoklasie entsteht.<sup>132</sup>

Das Skleromyxödem präsentiert sich durch muzinöse, respektive myxoide Einlagerungen in die Gefäßwand, durch die es zur Einengung des Lumens kommt. Hier sind insbesondere Arteriolen betroffen.<sup>133,134</sup>

Histologisch sind Veränderungen von Arterien und Arteriolen bei der thrombotischen Mikroangiopathie, abgesehen von den namengebenden aber nur fakultativ luminalen Thromben, gekennzeichnet durch Frühveränderungen wie Intimaödem, Endothelschwellung, fakultativ sogenannten fibrinoiden Wandnekrosen mit völlig fehlendem oder nur geringem Infiltrat, in der Spätphase durch eine fakultativ schaumzellige myxoide Intimafibrose ohne Elastose.<sup>135</sup>

Arteriosklerotische Schäden zeigen sich je nach Größe des Gefäßes in der Niere unterschiedlich. In der A. renalis selbst und ihren direkten Abgängen können noch atherosklerotische Veränderungen auftreten, die sich in einer fibrotischen Intimaverbreiterung mit einer Lumeneinengung und infiltrierenden lipidhaltigen Makrophagen zeigen. In den nachgeschalteten Arterien sind meist keine Leukozyten- oder Schaumzellinfiltrationen zu beobachten. In den Arteriae arcuatae und Arteriae interlobulares zeigen sich hyperelastotische und fibrotische Intimaverbreiterungen. Die Lumina sind durch die Veränderungen eingeengt.<sup>136-138</sup>

## **2.7. Die Banff Klassifikation: Arteritis und TCMR als Diagnosekriterium der TCMR und AMR**

Die Banff-Klassifikation ist das Produkt eines seit 1991 zweijährlich stattfindenden Expertenmeetings, bei dem die neuesten Erkenntnisse zum Thema der Nierentransplantationsmedizin diskutiert werden. Im Anschluss wird jeweils ein neuer Report zum Meeting veröffentlicht. Dieser fasst die Klassifikationsänderungen zusammen und diente lange als Klassifikation selbst.<sup>4,9,10</sup> Inzwischen wird auch die aktuelle Version der Klassifikation über die Banff-Webseite bereitgestellt.<sup>103</sup>

Die bis heute durch die Banff-Klassifikation fortgeführte Dichotomisierung der Abstoßungsreaktionen in die TCMR und AMR erfolgte ab dem Nachtragsbericht zur Banff-Klassifikation von 1997, der aber erst 2003 veröffentlicht wurde. In diesem wurden die aktive AMR (aAMR) und auch die aktive TCMR (aTCMR) erstmals definiert.<sup>139</sup> Mit der Eliminierung des Begriffes der chronischen Allograftnephropathie definierte die Banff-Klassifikation bereits 2005 auch die c(a)AMR und die caTCMR.<sup>140</sup>

Die AMR wurde in Kategorie 2 der Banff-Klassifikation definiert, die TCMR in Kategorie 4, ein Borderline-Infiltrat, welches für den Verdacht auf eine TCMR steht, definiert die 3. Kategorie<sup>10</sup>. Fortan waren für die Diagnose einer AMR zunächst 3 Kriterien zu erfüllen, wofür ab 2013 drei Unterkategorien benannt wurden, um jeweils Diagnoseäquivalente zusammenzufassen.<sup>141</sup> Bezogen auf die aAMR fasst die erste Kategorie eine histologische Evidenz für eine aktive antikörpervermittelte Gewebsentzündung zusammen. Bezogen auf die c(a)AMR fasst die

erste Kategorie eine morphologische Evidenz für einen chronische antikörpervermittelte Gewebsentzündung zusammen.

Kategorie 2 und 3 unterscheiden sich für die aAMR und caAMR nicht, für die cAMR ist weiterhin nur die Erfüllung von Kategorie 3 erforderlich. Kategorie 2 steht für die Evidenz hinsichtlich einer Interaktion der Antikörper mit dem Endothel. Hier zählt entweder eine C4d-Positivität oder ein MVI-Summenscore oder der Nachweis von validierten Transkriptprodukten. Für den MVI-Summenscore fordert Banff eine Summe  $\geq 2$  aus den Banff-Läsions-Scores g und ptc, wobei ein ptc-Score  $\geq 1$  bei einer gleichzeitigen TCMR oder Borderline-Abstoßung oder Infektion nicht ausreichend ist und  $g \geq 1$  sein muss. Die C4d Positivität kann anhand einer immunhistochemischen (IHC-)Färbung oder einer Immunfluoreszenz (IF-)Färbung ausgewertet werden. C4d wird allerdings in der IHC-Färbung bereits ab einem C4d-Score von  $\geq 1$  positiv gewertet, in der IF-Färbung erst ab einem Score von  $C4d \geq 2$ . Eine Transkriptproduktagnostik kann hier ebenso, wenn sie positiv ausfällt, verwandt werden, sofern sie hinreichend validiert ist.<sup>10</sup>

Die dritte Kategorie fordert den serologischen Nachweis von DSA oder „Äquivalente“. Als Äquivalent zählt entweder eine C4d-Positivität oder der Nachweis der validierten AMR-assozierten Transkriptprodukte, wobei die jeweils gleichen Einschränkungen wie in Kategorie 2 gelten. Eine C4d-Positivität oder der Nachweis der validierten Transkriptprodukte kann also als Kriterium 2 und 3 gleichzeitig gelten.<sup>10</sup>

Die Arteritis wurde initial als Aktivitätskriterium (später in Kategorie 1) der aAMR nur in Form einer transmuralen oder fibrinoiden Nekrose akzeptiert<sup>139</sup>. Ab 2013 wurde diese Einschränkung aufgehoben und jeglicher positive Banff-v-Läsions-Score  $\geq 1$  als Aktivitätskriterium der aAMR akzeptiert.<sup>141</sup> Entsprechend ist ein Banff-v-Läsions-Score im Kontext der aAMR nur dann zu werten, wenn jeweils auch ein Kriterium von Kategorie 2 und 3 erfüllt ist<sup>10</sup>. Alternativen zur Arteritis in Kategorie 1 sind die Glomerulitis oder die peritubuläre Kapillaritis, wobei diese auch hier nicht allein ausreichend ist, wenn gleichzeitig ein Borderline-Infiltrat oder eine TCMR oder eine Entzündung im Transplantat vorliegt. Die Glomerulitis darf nicht beim Vorliegen einer rekurrenten oder de novo Glomerulonephritis als solche gewertet werden. Alternativ kann hier noch eine thrombotische Mikroangiopathie (TMA) verwandt werden, für die aber auch Differenzialdiagnosen ausgeschlossen werden müssen.<sup>10</sup>

Bezogen auf die aTCMR ist das Vorliegen einer Arteritis im Sinne eines Banff-Läsions-Scores  $v \geq 1$  bereits seit ihrer Einführung diagnostisch und schweregraddefinierend.<sup>139</sup> Weiterhin gilt, dass ein Banff-Score  $v=1$  einer aTCMR Grad IIA, ein Banff-Score  $v=2$  einer aTCMR IIB und ein Banff-Score  $v=3$  einer aTCMR Grad III entspricht. Weitere Kriterien müssen hier nicht eben nicht erfüllt sein.<sup>10</sup>

Mit der Einführung der c(a)AMR und caTCMR 2005 wurde die TXA Diagnosekriterium für beide chronische Abstoßungsreaktionen, allerdings nicht mit derselben Definition.<sup>140</sup>

Für die AMR forderte Banff in der Diagnoseübersicht eine reine arterielle Intimalfibrose, im Fließtext sprach Banff hier allerdings von einer arteriellen Intimalfibrose ohne Duplikatur der *Lamina elastica interna*. Für die TCMR definierte Banff ebenso eine chronische Transplantarteriopathie, wobei diese hier eine Neointima mit einer mononukleären Zellinfiltration aufweisen musste.<sup>140</sup> Als Begründung für die Definitionen wurde eine Arbeit zitiert, welche Biopsien mit C4d positiven und C4d-negativen Abstoßungsreaktion verglich und hierbei auch das Auftreten von arteriellen Intimaverbreiterungen mit Schaum- und Leukozyteninfiltration dokumentierte ohne aber signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zu finden.<sup>115</sup> Gründe, warum die Diagnosekriterien unterschiedlich definiert wurden oder eine weitere Arbeit, auf deren Grundlage diese Entscheidung getroffen wurde, wurden in der Klassifikation nicht genannt.<sup>140</sup>

Bezüglich der AMR assoziierten TXA hat sich die Diagnoseformulierung über die Jahrzehnte geändert. Durch die Übernahme der vorher definierten Diagnosetabelle ohne den Fließtext in die Banff-Klassifikation von 2007 fand sich in dieser Klassifikation als Diagnosekriterium für die c(a)AMR nur noch die Definition einer fibrotischen Intimaverbreiterung, wobei die AMR-Assoziation der TXA in dieser Klassifikation noch einmal hervorgehoben wurde.<sup>142</sup>

Die nächste Änderung erfolgte in der Banff-Klassifikation von 2013, in der die arterielle Intimalfibrose erstmals als Ausschlussdiagnose definiert wurde; daneben wurde gefordert, dass die TXA neu aufgetreten sein musste. Weiterhin wird in dieser Klassifikation eine zusätzliche Färbung zur Darstellung der elastischen Fasern empfohlen, da wenige bis keine elastischen Fasern hinweisend auf eine abstoßungsinduzierte TXA seien, während multiple elastische Fasern auf einen arteriosklerotischen Gefäßschaden hindeuten. Auch wird beschrieben, dass eine Leukozyteninfiltration eine AMR-Assoziation wahrscheinlicher macht, diese könne aber nur bei fehlender TCMR in der Historie berücksichtigt werden, da diese dann auch ein Diagnosekriterium der TCMR werde. Eine Begründung für diese Klassifikationsänderung durch Originalarbeiten am Menschen fehlt auch hier. Die Klassifikation schwächt die Beschreibungen ab, indem sie einräumt, dass die Abgrenzungsmerkmale nicht definitiv seien.<sup>141</sup>

Die Banff-Klassifikation 2015 unterstreicht, dass die Leukozyteninfiltration im AMR-Kontext nicht obligat sei, dafür wird der Hinweis zur Elastose nicht mehr übernommen, zudem fordert Banff hier erstmals, dass eine TCMR mit arterieller Manifestation bei Leukozyteninfiltration ausgeschlossen sein muss, damit die TXA für die AMR Diagnosekriterium wird.<sup>143</sup> 2017 wird die Einschränkung zur Leukozyteninfiltrationswertung dahingegen verschärft, dass nicht nur die arterielle TCMR, sondern generell eine TCMR in der Historie ausgeschlossen werden

muss.<sup>144</sup> Bis einschließlich der Klassifikation von 2019 konnte die TXA also unter den genannten strengen Voraussetzungen dann zusammen mit mindestens einem Kriterium der Kategorie 2 und mindestens einem Kriterium der Kategorie 3 eine caAMR definieren. Für die Diagnose der cAMR reichte nur mindestens ein Kriterium der Kategorie 3 aus.<sup>7</sup>

Seit der Banff-Klassifikation von 2022 ist die TXA als Diagnosekriterium der AMR gestrichen worden. Sie soll nur noch als Zusatzinformation angegeben werden, da sie im AMR-Kontext auftreten kann.<sup>10</sup>

Die Begründung der Autoren der Klassifikation, die sich in identischer Weise auf der Website findet, ist fünfgliedrig. Als erstes Argument wird genannt, dass eine arterielle Intimalfibrose an sich hoch prävalent sei. Als zweites Argument wird angeführt, dass arterielle Gefäße in Biopsien weniger häufig vorhanden sind. Drittens wird begründet, dass die Reproduzierbarkeit des Scoring Systems der arteriellen Intimalfibrose schlechter ist als bei anderen Kriterien. Viertens wird argumentiert, dass für die TXA-Diagnose eine Vorbiopsie vorhanden sein muss und dies die Diagnostizierbarkeit einschränkt. Letztlich wird die TXA als nicht-spezifische Läsion bezeichnet.<sup>10,103</sup>

Alternativen, die weiterhin als Diagnosekriterium der c(a)AMR in Kategorie 1 gelten, sind die TG und die PTCML. Auch für die TG muss nach Banff eine vorangegangene TMA oder eine rekurrente oder *de novo* Glomerulonephritis ausgeschlossen sein.<sup>10</sup>

Die Definition der TCMR-assozierten TXA hat sich bis heute nicht geändert. Taucht eine von Banff als obligat durch eine mononukleäre Inflammation gekennzeichnete arterielle Intimalfibrose mit der Formation einer Neointima auf, so definiert sie an sich bereits eine caTCMR Grad II.<sup>8,10</sup>

Bezüglich der TXA in der Banff-Klassifikation muss noch zusätzlich angemerkt werden, dass diese bis 2018 nie auf eine schaumzellige Infiltration einging. Im Banff-Reference-Guide von 2018, welcher die damalige Banff-Klassifikation in Summa zusammenfasste und auf dem die aktuelle Banff-Website aufbaut, sowie die aktuelle Website zeigen die gleiche schaumzellig-infiltrierte arterielle Intimalfibrose als Bild.<sup>8,103</sup> Die Banff-Website weist aktuell trotz der geänderten Diagnosekriterien daraufhin, dass diese TXA Merkmal einer caTCMR oder aber auch einer c(a)AMR sein kann.<sup>103</sup> Anderweitig griff Banff die Möglichkeit der schaumzelligen Infiltration bis dato nicht auf.<sup>10</sup>

## 2.8. Fragestellungen und Ziel der Arbeit

Aufgrund der nachgewiesenen Prognoserelevanz von HLA-DSA, der durch Banff der AMR zugeordneten anderen Aktivitätskriterien der AMR<sup>37,43,101</sup> und der Diagnose der AMR an sich<sup>2,3</sup> ist es wichtig die Diagnosekriterien der AMR nicht nur spezifisch, sondern auch sensitiv zu formulieren.

Hierfür erscheint es auch aus der Logik heraus sinnvoll, alle bekannten morphologischen Kriterien einer Abstoßungsreaktion als Diagnosekriterien zu berücksichtigen, diese müssen dann aber so präzise formuliert sein, dass eine ausreichende Spezifität gewährleistet ist. Dadurch könnte die TXA als Diagnosekriterium der AMR erneut berücksichtigt werden. Die Formulierung des Diagnosekriteriums der TXA als Ausschlussdiagnose in der Banff-Klassifikation bis 2019 hatte bis dato keine sinnvolle Abgrenzbarkeit der TXA zu anderen Läsionen gewährleistet und war auch im klinischen Kontext nicht sinnvoll umsetzbar, wie Banff selbst einräumt.<sup>8</sup>

Die vorliegende Arbeit versucht nun mögliche Subtypen der TXA im AMR-Kontext zu erarbeiten und zu quantifizieren. Hierfür sollen die bereits in der Literatur vorbeschriebenen Subtypen einer hypoelastotischen, leukozyteninfiltrierten und schaumzellig infiltrierten TXA als Subtypen aufgegriffen werden und deren Prävalenz im AMR-Kontext herausgearbeitet werden. Ferner sollen diese 3 Subtypen auf Unterschiede hinsichtlich anderer AMR- und TCMR-Parameter, klinisch-epidemiologischer Parameter und des Transplantatüberleben untersucht werden. Diese Arbeit soll Grundlage dafür sein, dass weiterführende Arbeiten überprüfen, ob durch die von uns vorgeschlagene Subgruppendefinition eine spezifischere Diagnosekriterienformulierung der TXA gelingen kann und so eine Reintegration der TXA als Hybridsläsion in die Banff-Klassifikation möglich wird, damit keine AMR, die das arterielle Kompartiment betrifft, übersehen wird. Der Bedarf an weiterführenden Studien bezüglich der TXA wird dadurch verdeutlicht, dass derzeit davon abgeraten wird die TXA als möglichen Endpunkt in klinischen Studien zu nutzen, vor allem vor dem Hintergrund der uneinheitlichen TXA-Definitionen und ihrer schlechten Reproduzierbarkeit.<sup>145</sup>

Die vorliegende Arbeit ist im Journal of Nephrology bereits veröffentlicht wurden und ist mit der vorliegenden Genehmigung Grundlage dieser Promotion. Somit sind der Material- und Methodenteil, sowie der Ergebnisteil inhaltlich identisch mit der bereits veröffentlichten Arbeit.<sup>1</sup>

### **3. Material und Methoden<sup>1</sup>**

#### **3.1. Studiendesign – Einschlusskriterien der retrospektive AMR-Kohorte**

Die vorliegende Studie erfolgte im retrospektiven Design. Nach Durchsicht der Datenbank des Instituts für Pathologie des Universitätsklinikums zu Köln erfolgte der Einschluss aller Transplantatnierenbiopsien zwischen Januar 2005 und Dezember 2014, welche mindestens einen positiven AMR-Indikator aufwiesen. Als positiver AMR-Indikator zählte ein positiver Banff-Läsions-Score ( $\geq 1$ ) für v, g, ptc, C4d, cg. Zudem wurden alle Patienten mit serologisch nachweisbaren DSA zwischen 2009 und 2014 berücksichtigt und eingeschlossen, wenn von diesen Patienten Biopsien vorlagen. Für alle Patienten mit positivem Histologie-Kriterien

wurden die serologischen DSA-Daten zum Zeitpunkt vor der Biopsie und zum Biopsiezeitpunkt erhoben. Dies führte zunächst zum Einschluss von 784 Biopsien.

### **3.2. Histologie und TXA-Definitionen**

Alle eingeschlossenen Biopsien hatten gemäß des Routineprotokolls Färbungen auf Hematoxylin, Periodic-acid-Schiff, sowie eine Silber-Färbung und eine Elastica-Färbung erhalten. Auch war entweder eine immunhistochemische oder Immunfluoreszenzfärbung auf C4d erfolgt, auch erfolgte routinemäßig an allen Biopsien eine Färbung auf Protein Tyrosine Phosphatase, Receptor type, C (leukocyte common antigen; LCA) an allen Biopsien. Dies geschah nach den Angaben des Herstellers mit dem Primärantikörper M 0701 (Agilent DAKO, Hamburg, Germany) mit dem Peroxidase Erkennungssystem Leica Bond (Leica Biosystems, Deer Park, IL, USA).

Anhand dieser vorliegenden Färbungen wurden alle verfügbaren 784 Biopsien auf das Vorliegen der TXA-Subkategorien, der LCA+, der schaumzelligen (FC-TXA) oder der hypoelastotischen TXA (HE-TXA) gescreent.

Anhand der LCA-Färbungen wurde untersucht, ob in Arterien mit einer Intimaverbreiterung eine Infiltration der verbreiterten Intima oder Media durch LCA-positive Leukozyten vorlag. Bereits eine LCA-positive Zelle in einer Arterie werteten wir als positiv.

Für den Einschluss einer Biopsie in die Subgruppe der FC-TXA reichte ebenso der Nachweis einer Schaumzelle in einer arteriellen Intimaverbreiterung aus.

Die Subgruppe der hypoelastotischen TXA definierten wir anhand der Elastica-Färbung, hier schlossen wir arterielle Intimaverbreiterungen ein, wenn ein Anteil von > 50% der arteriellen Intimaverbreiterung ohne eine Vermehrung von elastischen Fasern vorlag. Gemäß der Banff-Klassifikation wurden präglomeruläre Gefäße mit mindestens 2 glatten Muskelzellen als Arterien gewertet<sup>8</sup> und nur Arterien wurden für die oben genannte Auswertung berücksichtigt; Arteriolen wurden nicht mit einbezogen.

Exemplarische Bilder der drei Subgruppen zeigt Abbildung 1.

Alle Biopsien, in denen eine oder mehrere der TXA-Subgruppen vorlagen, wurde in das TXA-Kollektiv eingeschlossen. Eine Biopsie, bei der sich die Rekurrenz einer IgA Glomerulonephritis herausstellte, wurde aus dem Kollektiv ausgeschlossen.

Alle TXA-Biopsien wurden erneut von einem Nephropathologen (Dr. med. Jan Ulrich Becker) in der Gegenwart und Mitansicht von Katharina Wirths nach den Banff 2017 Kriterien<sup>8,144</sup> mit einer dann durchgeführten Projektion auf die Banff-Klassifikation 2022<sup>10</sup> ausgewertet. Die neuen Kriterien der Banff-Klassifikation von 2022 der „C4d-Staining Without Evidence Of Rejection“, entsprechender einer C4d Positivität ohne Evidenz einer Abstoßung, sowie die „Microvascular Inflammatory/Injury (MVI), DSA-Negative And C4d-Negative“, entsprechend einer mikrovaskulären Inflammation ohne DSA und C4d Positivität, sowie die Unterkategorie der „Probable AMR“, der möglichen AMR, sowie der „C4d Staining With Acute Tubular Injury

(ATI), entsprechend einer C4d Positivität mit einem akuten tubulären Schaden wurden von uns nicht berücksichtigt, da diese Diagnosen aus der Kategorie 2 einerseits nicht als Abstoßung benannt sind, andererseits auch offenbar mangels Evidenz derzeit eher provisorischen Charakter haben.<sup>10,103</sup>

C4d wurde ebenso entsprechend der Banff-Klassifikation als positiv gewertet, wenn in einer Immunfluoreszenzfärbung ein Banff-C4d-Score von  $C4d \geq 2$  am Gefrierschnitt erreicht wurde oder in der immunhistochemischen Färbung am Paraffinschnitt ein Banff-C4d-Score von  $C4d \geq 1$  erreicht wurde.<sup>8,10</sup> Es erfolgte zudem bei allen Patienten mit Verdacht auf eine glomeruläre Proteinurie eine elektronenmikroskopische Untersuchung, um eine Transplantglomerulopathie mit dem Banff-Läsions-Score cg=1a oder eine Rekurrenz einer Glomerulonephritis auszuschließen.

### **3.3. Klinische Daten**

Zu allen Patienten wurden zudem die in Tabelle 1 aufgeführten klinischen Daten erhoben. Bei allen eingeschlossenen Patienten war eine AB0-kompatible Nierentransplantation durchgeführt worden.

### **3.4. HLA-DSA Testung**

Die serologische Testung aller Patienten erfolgte über LABScreen class I and II single antigen beads (SAB) (One Lambda, Inc., Canoga Park, California, USA).

Alle LABScreen Tests wurden nach Angaben des Herstellers mit einer 1:3 Serum-Verdünnung durchgeführt. Eine normalisierte mittlere Fluoreszenzintensität von über 1000 wurde, wie bereits vorbeschrieben,<sup>41</sup> als positiv gewertet.

### **3.5. Ethik**

Die Studie wurde durch das Institutionale Review Board (11-116) am Universitätsklinikum Köln genehmigt.

### **3.6. Statistik**

Kategoriale und ordinale Parameter wurden mit dem Chi-Quadrat-Test verglichen, kontinuierliche Parameter mit non-parametrischen Tests.

Die Transplantat-Verlust Kurven wurden über den Log-Rank-Test verglichen. Alle p-Werte beziehen sich auf zwei-seitige Tests, Unterschiede wurden als statistisch signifikant gewertet, wenn sie unter 0,05 lagen.

In dieser retrospektiven explorativen Studie können die p-Werte aber nur als deskriptiv gewertet werden.

## 4. Ergebnisse<sup>1</sup>

Insgesamt konnten 46 Biopsien von 33 Patienten in die TXA-Kohorte eingeschlossen werden, welche mindestens eine der oben vorgestellten TXA-Unterformen aufwiesen. Dies entsprach einer Gesamtinzidenz der TXA von  $46/784=5,9\%$  in unserem Kollektiv.

### 4.1. Häufigkeitsverteilung der TXA in allen Biopsien und in den Indexbiopsien

Abbildung 2 zeigt die Verteilung der Subtypen in den Indexbiopsien und ihre Evolution über die Zeit.

Insgesamt war die HE-TXA unter allen vorliegenden Biopsien mit  $36/46=78\%$  die häufigste Unterform der TXA, als solche lag sie mit  $15/36=42\%$  am häufigsten in Kombination mit einer LCA-Positivität und einer Schaumzellinfiltration vor. Hiernach lag sie gleichhäufig in Kombination mit einer LCA+ und FC mit jeweils  $8/36=22\%$  vor. Isoliert lag sie mit  $5/36=14\%$  der Fälle vor.

Eine LCA+TXA lag am zweithäufigsten bei  $33/46=72\%$  der Biopsien vor. Die 15 anteiligen Biopsien an der 3er Kombination machten bei ihr 45% der Fälle aus. Sie zeigte sich immerhin in  $9/33=27\%$  isoliert ohne FC oder HE. In  $8/33=24\%$  lag sie nur in Kombination mit einer HE-TXA vor. In nur  $1/33=3\%$  lag sie nur in Kombination mit FC vor.

Die seltenste Unterform bildete die schaumzellige TXA mit  $24/46=52\%$  der Fälle. Am weitaus häufigsten war sie ebenso HE und LCA+ mit  $15/24=63\%$ , weniger häufig war sie nur mit einer HE assoziiert mit  $8/24=33\%$  der Biopsien und am seltensten lag sie nur in Kombination mit LCA+ mit  $1/24=4\%$  vor. Sie kam nie allein vor.

### 4.2. Patientencharakteristik

In Tabelle 1 sind die klinischen Daten der Patienten getrennt nach den Untergruppen dargestellt. Trotz der Überschneidungen der Patienten, sowie der relativ kleinen Kohortengrößen, erfolgte jeweils ein Vergleich zwischen TXA-Biopsien mit einem positiven Merkmal und den TXA-Biopsien, die jeweils dieses Merkmal nicht aufwiesen: LCA-TXAen wurden also mit LCA-negativen TXAen verglichen, usw. Hinsichtlich des Geschlechts, des Alters bei Transplantation und des Grunderkrankungsprofil zwischen den Gruppen ergab sich kein signifikanter Unterschied in diesem Vergleich. Auch ergab sich kein signifikanter Unterschied bezüglich der gewählten Induktionsimmunsuppression aus Antithymozytenglobulin (ATG) oder IL-2 Inhibitor. Auch unterschieden sich die Gruppen nicht bezüglich des initial gewählten Calcineurininhibitors Tacrolimus oder Ciclosporin.

### 4.3. Verlaufsbetrachtung der TXA

Betrachten wir die in Abbildung 2 dargestellten Indexbiopsien, so ergab sich in diesen 33 Biopsien ein ähnliches Verteilungsmuster wie in den Gesamtbiopsien.

Die HE-TXA war erneut die häufigste Unterform mit 24/33=73% Fällen, am häufigsten lag sie kombiniert mit den beiden anderen Kriterien in 10/24=42% der Fälle vor und bei 6/24=25% Fällen war sie allein mit Schaumzellen und bei 3/24=12% allein mit einer LCA-Positivität kombiniert. Bei 5/24=21% der Fälle lag sie isoliert vor.

Die LCA-TXA lag mit 22/33=67% am zweithäufigsten vor. Sie lag nur bei 1/22=5% mit einer Schaumzellinfiltration kombiniert vor, zumindest in 8/22=36% lag sie allein vor.

Die FC-TXA war auch hier die seltenste Unterform und lag nur bei 17/33=52% der Biopsien vor.

Insgesamt war, bezogen auf alle kombinierten oder einzelnen Möglichkeiten, die Kombination aus allen drei Merkmalen der HE, LCA und der FC-TXA am häufigsten mit 10/33=30% zu finden. Die Entwicklung der einzelnen Subtypen ist in Abbildung 2 dargestellt. Bei 8 Patienten lag uns eine erste Folgebiopsie vor, von 3 dieser Patienten lagen uns noch weitere Folgebiopsien vor.

Wie Abbildung 2 zeigt, ist auffallend, dass sich die TXA-Morphologie fast immer änderte.

Nur bei einem Patienten lag zunächst eine FC-HE-TXA vor, die in einer Folgebiopsie ebenso zu finden war. Alle anderen Patienten änderten die TXA-Morphologie im Verlauf. Teils verloren sich Merkmale, teils kamen Merkmale hinzu, oder die TXA war gar nicht mehr nachweisbar. Diese Änderungen können verschieden erklärt werden. Zu berücksichtigen gilt, dass in Nierentransplantaten keine longitudinale Observation einer Arterie möglich ist, da eine gezielte Re-Biopsie der gleichen Arterie aufgrund der Vielzahl der Arterien unmöglich ist. Auch müssen Sampling-Fehler berücksichtigt werden; da die TXA nicht ubiquitär alle Arterien betrifft, kann eine TXA überproportional häufig, überproportional selten oder überhaupt nicht in der Biopsie zu finden sein. Generell ist das Verpassen einer Arterie ebenso möglich. Auch können bei gleichen Patienten verschiedene Subtypen der TXA parallel vorliegen, welche dann in unterschiedlichen/der gleichen Biopsie(n) getroffen werden.

Nichtsdestotrotz ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Subtypen bezüglich der Zeit nach Transplantation, also wann sie sich manifestierten.

Die LCA-TXA trat mit einem Median und 1. und 3.IQRs (IQRs) von 22,13,334 Tagen im Vergleich zu LCA-negativen TXAen und einem Median/IQRs von 1148, 794, 4637 signifikant früher nach Transplantation auf ( $p=0,0031$ ). Die HE-TXA trat im Gegensatz dazu mit einem Median/IQRs von 417,19,4175 Tagen im Vergleich zu den HE-negativen TXAen mit einem Median/IQRs von 15,7,335 Tagen signifikant später nach Transplantation auf ( $p=0,0122$ ).

#### **4.4. Histologie und Serologie der TXA-Patienten**

Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse der Serologie, die histologische Auswertung und die erreichten Diagnosen aller Indexbiopsien getrennt nach TXA-Subtyp. Signifikant unterschiedliche p-Werte sind in der jeweiligen Zelle mit einem \* markiert. Auch hier erfolgte der Vergleich trotz

der oben genannten und dargestellten Überschneidungen der Patienten, wir verglichen auch hier jeweils TXA-Biopsien mit einem positiven TXA-Merkmal mit den dann übrigen TXA-Biopsien, die dieses Merkmal nicht aufwiesen. LCA-TXAen wurden also mit LCA-negativen TXAen verglichen, FC-TXAen mit FC-negativen TXAen, HE-TXAen mit HE-negativen TXAen.

#### **4.4.1. Transplantarteriopathie und TCMR**

Im dichotomen Vergleich zwischen den LCA-TXA und den LCA-negativen TXA-, sowie HE-TXA- und HE-negativen TXA-, sowie zwischen den FC-TXA- und FC-negativen TXA-Indexbiopsien ergab sich kein signifikanter Unterschied bezüglich der in Vorbiopsien erreichten Diagnose einer aTCMR oder Borderline-Abstoßung. Allerdings lag bei allen 3 Gruppen nur bei ca. der Hälfte der Biopsien eine Vorbiopsie vor. Von den FC-TXA-Biopsien hatten  $8/17=47\%$  mindestens eine Vorbiopsie. Weder eine Borderline noch eine aTCMR Diagnose fand sich bei  $3/8=38\%$  der Patienten, ebenso  $3/8=38\%$  erreichten eine Borderline Abstoßung,  $1/8=12\%$  Patient erreichte eine aTCMR Grad I,  $1/8=12\%$  Patient erreichte eine aTCMR Grad II.

Bei den HE-TXA-Biopsien lag bei  $12/24=50\%$  eine Vorbiopsie vor. Hier lag bei  $4/12=33\%$  weder eine Borderline, noch eine aTCMR in einer Vorbiopsie vor. Ebenso  $4/12=33\%$  erreichten eine Borderline-Abstoßung, bei  $3/12=25\%$  lag eine aTCMR I vor, bei  $1/12=8\%$  lag eine aTCMR Grad II vor. Bei den LCA-TXA lag bei  $10/22=45\%$  mindestens eine Vorbiopsie vor.  $2/10=20\%$  dieser Patienten wiesen weder eine Borderline noch eine aTCMR Diagnose in den Vorbiopsien auf,  $4/10=40\%$  erreichten eine Borderline-Abstoßung,  $1/10=10\%$  eine aTCMR I,  $3/10=30\%$  eine aTCMR Grad II.

Betrachtet man die 33 Indexbiopsien insgesamt, so erreichten  $16/33=49\%$  Biopsien eine Borderline Abstoßung und zusätzlich  $13/33=39\%$  eine aTCMR. Zusammen erreichten also 88% (29/33) der Patienten eine Borderline oder aTCMR-Abstoßung. Im dichotomen Vergleich zwischen den jeweils positiven und negativen TXA-Biopsien zeigte sich ebenso kein Unterschied zwischen dem Vorliegen der Banff-Läsions-Scores i- und t, jeweils unterteilt in  $i/t=0$  und  $i/t \geq 1$ . Bezuglich des Banff-Läsions-Scores v zeigten sich im dichotomen Vergleich zwei Unterschiede. In der Gruppe der LCA-TXA lag signifikant häufiger ein Banff-Läsions-Score  $v \geq 1$  vor als bei den LCA-negativen TXAen ( $p=0,1226$ ), wobei  $12/22=55\%$  der LCA-Biopsien eine Arteritis aufwiesen, während nur  $1/11=9\%$  der LCA-negativen TXAen eine Arteritis aufwiesen. Umgekehrt ergab sich auch ein signifikanter Unterschied im Vergleich von HE-TXAen zu HE-negativen TXA. Hier zeigten nur  $6/24=25\%$  HE-TXAen eine Arteritis, während  $7/9=78\%$  der HE-negativen TXAen eine Arteritis aufwiesen ( $p=0,0135$ ), eine Arteritis lag also signifikant seltener bei den HE-TXAen vor. Der Vergleich der FC-TXA zu den FC-negativen TXAen ergab keinen signifikanten Unterschied: Bei den FC-TXA lag bei  $6/17=35\%$  der TXAen eine Arteritis vor, bei den FC-negativen TXA aber ähnlich häufig mit  $7/16=44\%$ .

Dies spiegelte sich auch im Vergleich der Borderline und aTCMR Grad II Diagnosen bei allen Gruppen wider. Bei den LCA-TXA-Biopsien lag signifikant häufiger eine aTCMR Grad II A und B vor, dafür seltener eine Borderline-Abstoßung (12/22=55%, 8/22=36%) als in den LCA-negativen TXA-Biopsien (1/11=9%, 8/11=73%) ( $p=0,0419$ ). Bei den HE-TXA-Biopsien lag signifikant häufiger eine Borderline-Abstoßung mit 14/24=58% und seltener eine aTCMR II A und B mit 6/24=25% vor, als bei den HE-negativen Biopsien mit jeweils 7/9=78% und 2/9=22% ( $p=0,0194$ ).

#### **4.4.2. Transplantarteriopathie und HLA DSA**

Insgesamt konnten bei 17/33=52% der Patienten zum Zeitpunkt der Biopsie oder vorher anti-HLA-DSA nachgewiesen werden.

Im dichotomen Vergleich der Gruppen ergab sich kein signifikanter Unterschied. Bei 13/24=54% der HE-TXA-Biopsien waren DSA nachweisbar, diese verteilten sich auf 6 (46%) Patienten nur mit HLA Klasse I Antikörper, 4 (31%) nur mit HLA Klasse II Antikörpern und 3 (23%) Patienten hatten sowohl HLA Klasse I als auch HLA Klasse II Antikörper. Bei den LCA-TXA wiesen 9/22=41% der Patienten HLA-AK auf, hiervon waren 2 (22%) HLA I AK, 4 (45%) HLA II-Antikörper und bei 3 (33%) waren HLA I und II Antikörper nachweisbar. Bei der FC-TXA zeigten 8/17=47% Patienten HLA-AK, hier lag bei 4 (50%) ein HLA I AK allein, bei 2 (25%) ein HLA-II AK allein vor und bei 2 Patienten (25%) lagen HLA I und II Antikörper vor.

#### **4.4.3. Transplantarteriopathie und AMR**

Bei 5/33=15% der TXA-Patienten lag uns eine Vorbiopsie, welche bereits eine AMR zeigte, dies entsprach zwei Patienten mit einer aAMR, zwei Patienten mit einer cAMR und einem Patienten mit einer caAMR. Insgesamt 17/33=52% der Patienten hatten eine Vorbiopsie erhalten, somit war der Anteil der Patienten mit einer AMR von denen, die eine Vorbiopsie erhalten hatten bei 5/17=29%. Bei allen 3 Patienten mit einer c(a)AMR war die Chronizitätskomponente aufgrund der Auswahlkriterien der Indexbiopsien durch eine Transplantglomerulopathie (Banff-Läsions-Score  $cg>0$ ) verursacht. Im dichotomen Vergleich ergab sich bezüglich der AMR-Vordiagnosen kein signifikanter Unterschied.

In 12/33=36% der Indexbiopsien konnte die Diagnose einer aAMR oder c(a)AMR nach den Banff-Kriterien von 2022 erreicht werden. Entsprechend der geänderten Diagnosekriterien zählte die TXA hier als Diagnosekriterium nicht mit. Wenn wir die drei von uns definierten TXA-Untergruppen als Diagnosekriterium der AMR berücksichtigt hätten, dann hätten wir in 5 (15%) weiteren Indexbiopsien eine AMR-Diagnose erreicht, in zwei zusätzlichen Biopsien (6%) hätte sich die Diagnose von einer aAMR zu einer caAMR gewandelt.

11/33=33% der Indexbiopsien wiesen zusätzlich zur TXA auch eine Transplantglomerulopathie, welche über einen positiven Banff-Läsions-Score  $cg \geq 1$  definiert

war und für die eine Glomerulonephritis oder TMA als ursächlich ausgeschlossen wurde. Bezogen auf die TXA-Untergruppen lag bei 9/24=38% der HE-TXA, bei 5/17=29% der FC-TXA und bei 4/22=18% der LCA-TXA eine TG vor. Diesbezüglich fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Hieraus ergibt sich, wenn man das gering evidenzbasierte, bzw. schlecht differenzierte Diagnosekriterium der PTCLM<sup>10,145</sup> außer Acht lässt, dass bei 22/33=67% der Indexbiopsien keine AMR-Diagnose erreicht wurde.

9/33=27% der Indexbiopsien erreichte einen positiven Banff-Summenscore der moderaten mikrovaskulären Inflammation (MVI-Score), welcher in den AMR-Kriterien als Evidenz der kürzlichen oder laufenden Interaktion von Antikörpern mit dem Endothel („evidence of current/recent antibody interaction with vascular endothelium“) dient<sup>10</sup>. Im dichotomen Vergleich ergab sich hieraus kein signifikanter Unterschied. Bezogen auf die Untergruppen ergab sich bei 4/17=24% der FC-TXA, bei 5/23=23% der LCA-TXA und bei 5/24=21% der HE-TXA ein positiver MVI-Score. Auch im dichotomen Vergleich der Banff-Scores g=0 und g≥1, sowie ptc≥1 und ptc=0 ergab sich kein signifikanter Unterschied.

Auch das in der Banff-Klassifikation in den „Additional Diagnostic Parameter“ definierte Kriterium der „TMA Without Other Cause“, der TMA ohne andere Ursache, war bei 5/33=15% positiv, bezogen auf die Untergruppen war dies bei 3/17=18% der FC-TXA, 3/22=14% der LCA-TXA und bei 4/24 =17% der HE-TXA der Fall. Hier ergab sich ebenso kein signifikanter Unterschied im dichotomen Vergleich der Gruppen.

Eine C4d Positivität lag bei 5/33= 15% der Indexpatienten vor. Bezogen auf die Untergruppen war C4d bei 2/17=12% der FC-TXA, bei 3/22=13% der LCA-TXA und bei 3/24=13%) positiv, auch hier ergab sich kein signifikanter Unterschied im dichotomen Vergleich.

#### **4.5. Prognose der Patienten mit einer Transplantarteriopathie**

Während der Nachbeobachtungszeit (Minimum 0, Maximum 2447, Median 860, IQR 98 und 1397 Tagen) verloren 12 Patienten ihr Transplantat, 1 Patient starb mit funktionierendem Transplantat. Aufgrund des zeitlich unterschiedlichen Auftretens der unterschiedlichen TXA-Formen nach Transplantation, testeten wir nicht auf ein unterschiedliches Transplantatüberleben zwischen den TXA-Gruppen. Die Kaplan-Meier Schätzung über das Transplantatüberleben aller 3 Subtypen der TXA von den Indexbiopsien ist in Tabelle 2 dargestellt. Wie in Abbildung 3 dargestellt, verloren die 11 Patienten, die gleichzeitig eine TG in der Indexbiopsie aufwiesen ihr Transplantat signifikant früher als die Patienten, die in der Indexbiopsie keine Transplantglomerulopathie aufwiesen ( $p=0,015$ ).

### **5. Diskussion**

Unsere Arbeit quantifiziert als Erste die Subtypen der FC-, LCA-, und HE-TXA vergleicht diese bezüglich der anderen AMR- und TCMR-Parameter, klinischen und epidemiologischen Daten und mit dem Transplantatüberleben. Durch die Aufarbeitung dieser Subtypen im AMR-Kontext soll ein Denkanstoß darüber gegeben werden, ob die Streichung der TXA als Diagnosekriterium für die AMR in der Banff-Klassifikation wirklich beibehalten werden sollte. Über weiterführende Arbeiten sollte überprüft werden, ob durch die von uns vorgeschlagene Subtypendifferenzierung eine Reintegration der TXA als Diagnosekriterium in die Banff-Klassifikation als Hybridläsion gelingen kann. Hierdurch sollte seltener eine AMR mit Projektion auf das arterielle Kompartiment übersehen werden.

Die Identifizierung von Kriterien zur besseren Ein- und Zuordnung einer TXA im Transplantationskontext ist deshalb so wichtig, da nicht nur die AMR an sich prognoserelevant ist,<sup>3</sup> sondern auch die Beteiligung des arteriellen Kompartiments mit einer besonders schlechten Prognose insbesondere im AMR-Kontext einhergeht.<sup>101</sup> Auch für Therapieentscheidungen ist die ursächliche Zuordnung häufig entscheidend, da medikamentös oder anderweitig therapeutisch in die zugrundeliegenden Entstehungsmechanismen eingegriffen werden kann.

#### **5.1. Inzidenz der TXA**

Unsere Arbeit zeigte eine Gesamtinzidenz der von uns definierten Subtypen der FC-, HE- und oder LCA-TXA von ~ 6% in Indikationsbiopsien. Dies entspricht dem TXA-Kollektiv einer Arbeitsgruppe, welche eine Inzidenz der TXA von 7,45%, in Protokollbiopsien zeigte. Allerdings erfolgte keine weiterführende Definition der TXA,<sup>146,147</sup> unter Angabe der ersten Banff-Klassifikationen<sup>4,148</sup> ist am ehesten von einer Definition als alleinige arterielle Intimaverbreiterung auszugehen, dadurch könnte die höhere Inzidenz erklärt werden. Bei einer Inzidenz der TXA von 6-7,5% ist diese Läsion nicht zu vernachlässigen. Selbst die Inzidenz der alleinigen HE-TXA, welche den häufigsten Subtyp in unserem Kollektiv ausmachte, lag immerhin bei 36/784=4,59%.

## **5.2. TXA als Diagnosekriterium in der Banff-Klassifikation – offene Fragen und Widersprüche**

Die Ergebnisse unserer Arbeit sind ein Argument gegen die kürzlich im Rahmen der aktuellen Banff-Klassifikation getroffenen Entscheidung, die TXA, oder die von Banff als Ausschlussdiagnose definierte arterielle Intimafibrose als Diagnosekriterium der AMR zu streichen.<sup>10</sup> Aus der derzeitigen Klassifikation ergeben sich Widersprüchlichkeiten und offene Fragen im Hinblick auf die Bewertung der Arteritis und TXA im Zusammenhang und auch bezogen auf die AMR und TCMR.

### **5.2.1. Arteritis Hybridläsion, TXA keine Hybridläsion**

Seit der Klassifikation von 2022 ist die TXA kein Diagnosekriterium mehr für die AMR. Im Gegensatz hierzu bleibt die Arteritis von der Änderung unberührt und ist weiterhin Diagnosekriterium für eine aAMR,<sup>10</sup> die Arteritis ist somit eine „Hybridläsion“. Der Begriff der „Hybridläsion“ meint hier, dass anerkannt wird, dass die Arteritis durch eine TCMR und AMR entstehen kann. Durch *in vivo*-,<sup>86</sup> aber auch Studien am Menschen<sup>123,149,150</sup> wird die TXA als Korrelat einer chronischen oder abgelaufenen Arteritis gewertet. Es erscheint entsprechend nicht konsistent eine Läsion in ihrer aktiven Ausprägung einem Mechanismus zuzuordnen, dies aber in der chronischen Ausprägung nicht mehr zu erlauben.

Bereits eine ältere Übersichtsarbeit von 1999 erklärte die Entstehung der Arteritis und TXA zusammen im fließenden Übergang, Zunächst soll deren Entstehung mit einer endothelialen Aktivierung, Schwellung und Vakuolisierung und mit einer fokalen Lösung der Endothelzellen von der Basalmembran beginnen. Nach einer Leukozytenadhäsion, vornehmlich von Lymphozyten und Monozyten, sollen diese in den subendothelialen Raum infiltrieren.<sup>150</sup> Definitionsgemäß ist hierdurch die Entstehung der Arteritis erklärt.<sup>10</sup> Hinzukommen kann, dass manche der Monozyten durch Phagozytose zu Schaumzellen werden. Durch die Migration von Myofibroblasten in den subendothelialen Raum wandern Zellen ein, die Kollagenfasern produzieren können. Schreitet deren Produktion voran, kommt es schließlich zur Formation einer Neointima mit Fibroseanteilen.<sup>150</sup>

Der Autor spricht sich klar für eine Sequenz von initialer Arteritis mit Entzündung und Leukozyteninfiltration mit Übergang zur „proliferativen“ und „schaumzelligen“ Intimaverbreiterung mit im weiteren Verlauf zunehmende Fibrose aus.<sup>150</sup> Folgt man diesem Denkkonzept, obwohl der Verweis auf Originalarbeiten hier leider gänzlich fehlt,<sup>150</sup> müssten Arteritis und TXA zusammen Abstoßungsursachen der Arteritis zugeordnet werden und damit beide als Hybridläsion anerkannt werden.

Auch unsere Daten stützen dieses Denkkonzept der gemeinsamen Entstehung der TXA durch eine AMR und TCMR. In unserem Kollektiv erreichten immerhin bereits 36% der gesamten TXA-Patienten eine AMR-Diagnose, unter Berücksichtigung der TXA als Diagnosekriterium hätten weitere 15% der Biopsien eine AMR-Diagnose erhalten. Insgesamt spricht auch der häufige Nachweis von DSA mit 52%, die häufig konkordant aufgetretenen TG mit 33%, die MVI im Banff-Summenscore von  $\geq 2$  bei immerhin 27% und zumindest eine C4d-Positivität von 15% für einen engen Zusammenhang mit der AMR.

### **5.2.2. Sequenzielle Entstehung der TXA**

Die schon angesprochene Entstehungstheorie der TXA durch eine initiale Arteritis und das Tieferwandern der Leukozyten mit abschließender Fibrose<sup>150</sup> wird auch durch unsere Ergebnisse gestützt. Die LCA-TXAen zeigte in unserem Kollektiv signifikant häufiger eine Arteritis als die LCA-negativen TXAen ( $p=0,0216$ ), die HE-TXAen zeigte signifikant seltener eine Arteritis als die HE-negativen TXAen ( $p=0,0135$ ). Die LCA-TXA zeigte sich signifikant früher nach Transplantation ( $p=0,0031$ ), die HE-TXA signifikant später ( $p=0,0122$ ).

Beide Beobachtungen könnten deuten darauf hin, dass die LCA+ TXA im zeitlichen Intervall näher an der vorangegangenen Arteritis steht. Die Infiltrate könnten tiefer in den subendothelialen Raum in die dortige Bindegewebsschicht weiterwandern. Diese subendotheliale Bindegewebsschicht könnte im Verlauf immer weiter an Breite zunehmen und der infiltrative Charakter könnte sich mit abnehmender Entzündungsaktivität in eine fibrotische Intimaverbreiterung weiterwandeln, was dann die HE-TXA im Verlauf widerspiegeln würde.

Auch hierdurch wird die Zuordnung der TXA in allen 3 von uns definierten Subtypen zur AMR verdeutlicht, aber eben auch die Zuordnung zur TCMR über die Arteritis.

### **5.2.3. Gemeinsame Endstreckenentstehung**

Verfolgt man das Konzept der sequenziellen Entstehung der TXA weiter, so kann man die Entstehung der TXA als gemeinsames Endstreckenkorrelat einer Arteritis mindestens durch eine TCMR oder AMR werten. Entsprechend müssten aber dann auch alle Subtypen der TXA in der sequenziellen Entstehung einer TCMR und AMR zugeordnet werden. Die TXA-Subtypen würden sich dann hier möglicherweise im Sinne des gemeinsamen Endstreckenkorrelats insofern nicht unterscheiden, als dass im Entstehungsprozess keine weiteren T-Zell oder antikörpervermittelten Effekte eine nachgeschaltete Rolle spielen.

Anerkannt ist, dass sich die AMR- und TCMR verursachte Arteritis nicht unterscheiden<sup>151</sup>, auch für die TXA könnte insofern die Zuordnung zum am ehesten ursächlichen Abstoßungsmechanismus nur über die Auswertung von weiteren Abstoßungsparametern gelingen, analog der Arteritis.

#### **5.2.4. TCMR - Arteritis und TXA – Subtypen und Spezifitätsfrage**

Ausgehend vom Konzept der sequenziellen Entstehung der TXA aufgrund unserer und anderer Daten,<sup>150</sup> wäre es nach der Banff-Klassifikation folgerichtig, eine schaumzellige/leukozyteninfiltrierte/LCA-TXA, die eine vorangegangene Arteritis und damit zwingend eine aTCMR Grad II+ widerspiegelt, auch einer caTCMR Grad II zuzuordnen.<sup>10</sup> Darüber hinaus müsste aber diskutiert werden, ob auch eine HE-TXA einer TCMR zugeordnet werden muss.

Insgesamt gibt Banff bezüglich der Arteritis und leukozyteninfiltrierten TXA im Gegensatz zur AMR keine weiteren Kriterien für die Diagnosestellung einer aTCMR Grad II+ oder caTCMR Grad II vor. Entsprechend bedeuten die beiden Läsionen derzeit zwingend die jeweiligen Diagnosen.<sup>10</sup> Ob eine Arteritis und TCMR jeweils obligat eine T-Zell-Antwort in der Entstehung benötigen, ist aufgrund der derzeitig vorliegenden Literatur nicht zu klären. Wie genau die T-Zell Antwort dann mechanistisch zu verstehen ist, wird durch die Banff-Klassifikation auch nicht weiter erklärt.<sup>10</sup> Ob hier gegebenenfalls erweitert auch eine zwingende T-Helfer-Zell Antwort zur Entstehung von Antikörpern gemeint sein kann, ist unter der strikten Abgrenzung zur AMR unwahrscheinlich. Eher erscheint eine zytotoxische T-Zell Antwort gemeint zu sein, im Gegensatz zu Daten zur notwendigen CD-4-Zell-Aktivität,<sup>120,121</sup> erfordert es mehr Studien zur Klärung der genauen (zytotoxischen) T-Zell-Antwort in Bezug auf die Entstehung von Arteritis und TXA.

Vor dem Hintergrund, dass eine Arteritis und eine TXA auch durch Antikörper<sup>88,101</sup> oder andere Immunzellen<sup>120,130</sup> entstehen können, bleibt die Frage ungeklärt, ob die fehlenden Spezifitätsregelungen in Bezug auf die TCMR-Arteritis/-TXA sogar eine Überdiagnostik der TCMR im Hinblick auf arterielle Abstoßungsmuster bedeuten.

## **5.2.5. Widerspruch des obligaten Ausschlusses der (tubulointerstitiellen) TCMR und von Differentialdiagnosen für eine AMR-TXA bis 2019<sup>7</sup>, Unabhängigkeit der tubulointerstitiellen Inflammation und einer Arteritis**

Bis 2022 war die TXA als Ausschlussdiagnose formuliert.<sup>7</sup> Allein schon vor dem Hintergrund des Patientenkollektivs der Nierentransplantatempfänger und der infrage kommenden Arteriosklerose<sup>14</sup> als Differentialdiagnose erscheint es kaum möglich, diese als Differentialdiagnose bei einer nicht weiter spezifizierten arteriellen Intimafibrose gänzlich auszuschließen. Gleiches gilt auch für das geforderte Ausschließen einer TCMR in der Vorgeschichte. Bei sogar in Protokollbiopsien mit stabiler Transplantatfunktion häufig dokumentierten tubulointerstitiellen Abstoßungsreaktionen.<sup>124,152</sup> kann kaum gänzlich ausgeschlossen werden, dass keine Episode einer TCMR in der Vorgeschichte vorgelegen hat, auch wenn der Patient eine Vorbiopsie ohne TCMR hatte oder keine Vorbiopsie bei stabiler Transplantatfunktion vorlag.

Es erscheint zudem unlogisch, dass eine TCMR, die sich bis zuletzt nur tubulointerstitiell manifestiert hatte, ausschließt, eine TXA danach einer AMR zuzuordnen. Dieses verbotene Zuordnen galt sogar auch dann, wenn eine Arteritis in der gleichen Biopsie mit der TXA eher einem AMR-Kontext zugeordnet werden würde, da andere positive Kriterien der aAMR vorlagen ohne vermehrte tubulointerstitielle Inflammation.<sup>7,10</sup>

Im Gegenteil stützen einige Studien eher eine Unabhängigkeit der tubulointerstitiellen Inflammation und Arteritis. Zwar zeigten die TXA-Biopsien in unserem Kollektiv häufig ein Borderline-Infiltrat (FC-TXA =53%, HE-TXA =58%, LCA-TXA =36%), aber eine akute tubulointerstitielle TCMR Grad IA und IB wurde in unserem Kollektiv bei keiner einzigen TXA-Biopsie als maximale Akutdiagnose erreicht. Zumindest 3/33=9% Biopsien hätten aber trotz Arteritis auch eine aTCMR IA oder IB erreicht. Eine andere Studie zeigt ähnliche Daten zum Borderline Infiltrat und einer aTCMR IA/IB bei Patienten mit einer Arteritis und HLA-DSA. Hier erreichte eine Mehrheit der Biopsien zumindest noch ein Borderline-Infiltrat, eine aTCMR IA oder IB wurde aber deutlich seltener erreicht.<sup>153</sup> Eine andere Studie zeigte zumindest in ~45% von Biopsien mit einem Banff-v-Score  $\geq 1$  einen Banff -Score von jeweils  $\geq t2$  und oder i2, wobei die Häufigkeit der TCMR Grad IA und IB Diagnosen nicht aufgeführt waren, der Logik nach könnten aber auch in diesem Kollektiv maximal ~45% der v-Biopsien eine aTCMR Grad IA/B erreichen, da beide Scores  $\geq 2$  für die Diagnose vorliegen müssten.<sup>154</sup> In einer anderen Studie lag der Anteil von Biopsien mit konkordanter aTCMR IA/B und Arteritis ähnlich hoch bei ~41%.<sup>155</sup>

Andersherum gelten diese Beobachtungen nicht: Insbesondere Biopsien, die ein Borderline Infiltrat zeigen, aber auch aTCMR IA- und IB-Biopsien zeigen häufig keine Arteritis.<sup>153</sup> Eine andere Gruppe fand auch keinen signifikanten Unterschied von den Banff-Läsions-Parametern zwischen Patienten mit einem prädominierenden CD3-positivem Zell.-Anteil der Inflammation

von Arteritiden und Patienten mit Arteritiden, welche von CD68+ Zellen vermehrt infiltriert waren. Also scheinen Arteritiden mit höherem T-Zell-Infiltrationsanteil ebenso nicht zwangsläufig eher einer tubulointerstitiellen TCMR zuzuordnen zu sein.<sup>151</sup> Auch diese Studien sprechen dagegen, dass eine vorangegangene tubulointerstitielle TCMR eine Zuordnung der TXA zur AMR in Zukunft unmöglich macht, da eine tubulointerstitielle TCMR eben ihrerseits nicht häufig mit einer Arteritis einhergeht.

## 5.2.6. Spezifitätssorge, zwei- bis dreigliedrige AMR-Diagnose

Bezüglich sämtlicher Kriterien der AMR wiederholt und hebt die Banff-Klassifikation immer wieder hervor, dass weitgehend alle AMR-Kriterien ebenso durch andere Ursachen entstehen können. So ist weder die MVI, also die Glomerulitis und peritubuläre Kapillaritis, noch die TG oder PTCML oder TMA an sich spezifisch und können durch Differenzialdiagnosen verursacht werden,<sup>6,126,156</sup> selbst die TCMR ist für die MVI, insbesondere die peritubuläre Kapillaritis<sup>156,157</sup> Differenzialdiagnose, also genauso wie für die TXA.<sup>106</sup> Nichtsdestotrotz bleiben diese Kriterien im Gegensatz zur TXA als Diagnosekriterien erhalten.

Wegen der nicht gegebenen Spezifitäten der einzelnen AMR-Kriterien, beugt Banff einer falsch-positiven Diagnose dadurch vor, dass nicht nur die einzelne AMR-Läsion in der jeweiligen Kategorie 1 positiv sein müssen, sondern auch eines der weiteren Kriterien der 3. Kategorie und für eine Aktivitätskomponente im chronischen Setting auch zwingend ein Kriterium der 2. Kategorie.<sup>10</sup>

Diese komplizierte Diagnostik wurde am ehesten von den Verfassern gewählt, um eine ausreichende Spezifität der Diagnose zu garantieren; dieses Ziel formulierten die Autoren der Klassifikation bereits im ersten Meeting Report.<sup>4</sup>

Unter dem Schutz der Dreifachgliederung, wird die Spezifität des einzelnen Kriteriums weniger ausschlaggebend. Das Argument, die TXA aufgrund der nicht ausreichenden Spezifität als Diagnosekriterium zu streichen, erscheint vor diesem Hintergrund wenig stimmig.

## 5.2.7. Problematik des „Neu Auftretens“

Das vormals geforderte neue Auftreten/“new onset“ für die TXA bis zur Banff-Klassifikation von 2019<sup>7</sup> wird in der jetzigen Klassifikation zurecht kritisiert.<sup>10</sup> Am ehesten zielte diese Formulierung darauf ab eine Überdiagnostik einer AMR zu verhindern. Sämtliche Differenzialdiagnosen können aber der Logik nach auch neu auftreten, eine Differenzialdiagnose wird dadurch wahrscheinlich, dass andere Kriterien im klinischen und pathologischen Kontext auf sie hindeuten.

Vermeintlich als Korrelat der Differentialdiagnose der Arteriosklerose oder auch der caTCMR zeigt eine Studie einen immerwährenden Progress der arteriellen Intimaverbreiterungen in Nierentransplantaten ohne DSA.<sup>15</sup> Dies untermauert, dass das Kriterium des „Neu Auftretens“ auch eine Arteriosklerose/caTCMR oder andere Differenzialdiagnosen, die den Progress verursacht haben könnten, eben nicht zuverlässig ausschließt.

Das zwingend zu beweisende Neuauftreten verkomplizierte somit die Diagnosestellung einer AMR-TXA, indem es obligat eine Vorbiospie einforderte, welche nicht immer verfügbar war. Dies wurde auch bereits im „Banff Reference Guide“ von 2018 kritisiert.<sup>8</sup> Zu einer verbesserten Abgrenzung zu Differentialdiagnosen führte dieses Kriterium nicht. Auch unabhängig vom Vorliegen einer Vorbiopsie können AMR oder Differentialdiagnosen eine arterielle Intimaverbreiterung verursachen.

### **5.2.8. Andere Abstoßungsmechanismen als in der Banff-Klassifikation**

Aus der Primärliteratur ist bekannt, dass in der Genese der TXA auch NK-Zellen<sup>120,126,127</sup> und Makrophagen<sup>130</sup> eine Rolle spielen können. Dass Abstoßungsreaktionen und -läsionen also nicht zwingend unter Beteiligung von entweder Antikörpern oder T-Zellen entstehen müssen, ist in der Banff-Klassifikation bis dato nicht berücksichtigt.<sup>10</sup> Sollte dies aber die Diagnosekriterien für die AMR/ TXA-AMR in der Banff-Klassifikation beeinflussen?

Nein, denn zwar bilden die oben genannten Mechanismen Differentialdiagnosen zur Entstehung der TXA, aber es ist eben auch bekannt, dass die TXA durch Antikörper entsteht<sup>88</sup> und durch andere Parameter der AMR kann zumindest der Logik nach eine Zuordnung der TXA zur AMR gelingen. Und eben im Zusammenhang mit DSA scheint es zu einem schnelleren Progress mit Prognoserelevanz der Läsion zu kommen als ohne DSA,<sup>114</sup> sodass die TXA, welche im Zusammenhang mit einer AMR steht, nicht als Diagnosekriterium in der Banff-Klassifikation fehlen darf nur weil sie durch andere Mechanismen ebenso entstanden sein kann.

### **5.2.9. Lösungsvorschlag TXA - Diagnosekriterium präzisieren**

Den genannten Kritikpunkte der Banff-Klassifikation, dass die TXA im AMR-Kontext unspezifisch ist und dass die Reproduzierbarkeit der Diagnose schlecht ist, kann durch eine präzisere Diagnosekriterienformulierung entgegengesteuert werden. Hierzu könnten die von uns definierten Subtypen verwandt werden. Es sollten aber weitere im besten Fall prospektive multizentrische Studien die Zugehörigkeit zur AMR bestätigen und ggf. deren Häufigkeit bei Differenzialdiagnosen bestimmen.

Insgesamt spricht unsere Arbeit durch das häufige Vorliegen von anderen AMR-Parametern (52% DSA, 33% TG, 27% MVI  $\geq 2$ , 15% C4d) und vor dem Hintergrund der bekannten Primärliteratur klar dafür, dass alle 3 Subtypen einer AMR zuzuordnen sind.

Neben der hohen Spezifität muss es Ziel der Banff-Klassifikation sein, alle antikörpervermittelten Abstoßungsreaktionen auch mit Ausdehnung auf das arterielle Kompartiment durch die Diagnosekriterien zu erfassen. Dies sollte zumindest durch unsere vorgeschlagenen TXA-Subtypen verbessert werden können, wenn diese zu einer Reintegration der TXA in die Banff-Klassifikation beitragen.

### **5.3. Zellinfiltrierte TXA, Leukozyteninfiltration DD Myofibroblasten**

Verschiedene Arbeiten heben im Transplantationskontext auch den Nachweis von smooth muscle cell alpha actin ( $\alpha$ -SMA)-positiven Zellen in der arteriellen Intimaverbreiterung hervor, wobei es sich hierbei am ehesten um „Myofibroblasten“ aufgrund der  $\alpha$ -SMA Expression handelt.<sup>15,158</sup>

Bei zellinfiltrierten arteriellen Intimafibrosen kann entsprechend nicht automatisch von einer leukozyteninfiltrierten TXA ausgegangen werden, sondern es muss differentialdiagnostisch an das Vorhandensein von Myofibroblasten gedacht werden. Sofern dies nicht lichtmikroskopisch ohne erweiterte Färbung entschieden werden kann, müssen beide Zelltypen und ebenso ein gemischt-zelliges Infiltrat in Betracht gezogen werden.

Auch *in vivo*-Studien beschreiben nach MHC-inkompatibler Nierentransplantation in Affen arterielle Intimafibrosen, welche neben T-Zellen und Makrophagen hauptsächlich durch Myofibroblasten infiltriert sind.<sup>18</sup> Auch zeigte eine Arbeit eine arterielle Intimaverbreiterung mit  $\alpha$ -SMA-positiver Zellinfiltration an Ratten nach der Transplantation eines abdominalen Aortensegments.<sup>159</sup>

Speziell bezogen auf den AMR-Kontext konnte nach passivem HLA-Antikörpertransfer in B- und T-Zell-defiziente Mäuse nach Herztransplantation eine TXA induziert werden, in welcher auch  $\alpha$ -SMA-positive Zellen in der Neointima nachgewiesen wurden.<sup>88</sup>

Myofibroblasten werden in der Primärliteratur auch am Menschen im AMR-Kontext diskutiert. So zeigten Biopsien von Patienten mit DSA im Gegensatz zu Biopsien von Patienten ohne DSA nicht nur einen signifikant stärkeren Progress der arteriellen Intimaverbreiterung in Verlaufsbiopsien, sondern auch eine vermehrte „Hyperzellularität“ insbesondere in den endothelnahen Anteilen, sodass auch diese Anteile als eher „frische“ Verbreiterungszone gedeutet wurden. Die infiltrierenden Zellen wurde durch eine  $\alpha$ -SMA Färbung als Myofibroblasten identifiziert.<sup>15</sup>

Bereits ältere Übersichtsarbeiten gingen davon aus, dass Myofibroblasten die Extrazellulärmatrix (EZM)-Produzenten sind und entsprechend in ihrem „Arbeitsgebiet“ nachgewiesen werden.<sup>150</sup> Wenn sie die Hauptproduzenten der EZM sind, wäre ohne sie eine eigentliche Lumeneinengung vermutlich deutlich geringer ausgeprägt. Neben der Fähigkeit EZM zu produzieren,<sup>158</sup> weist auch ihre räumliche Nähe zur EZM daraufhin,<sup>15</sup> dass die  $\alpha$ -SMA-positiven Myofibroblasten deren Produzenten sind.

Spezifisch für eine AMR sind Myofibroblasten allerdings nicht, da sie auch bei Differenzialdiagnosen als EZM-Produzenten eine arterielle Intimaverbreiterung verursachen, insbesondere ist hier die Arteriosklerose zu nennen.<sup>158</sup> So zeigte sich auch bei Transplantatbiopsien von DSA-negativen Patienten eine arterielle Intimaverbreiterung mit langsamerem Progress, die in geringerem Ausmaß mit Myofibroblasten durchsetzt war, eine genaue Quantifizierung dieser differenten Beobachtungen fehlt aber in dieser Arbeit.<sup>15</sup>

Eine Denkhypothese wäre, dass die Anzahl der Myofibroblasten auch mit der Menge an produzierter EZM in Verbindung steht und somit ihr vermehrter Nachweis im Kontext mit einem schnelleren Progress der arteriellen Intimaverbreiterung steht und dies dann auch häufiger im AMR-Kontext zu beobachten ist. Auch die Autoren der genannten Studie stellen die Hypothese auf, dass die Myofibroblasten insbesondere im Kontext mit einer MVI für eine noch aktive Abstoßungsreaktion und entsprechenden Progress stehen.<sup>15</sup>

In jedem Fall kann die LCA-Färbung aber helfen, eine Leukozyteninfiltration von Myofibroblasten abzugrenzen. Weiterführende Arbeiten könnten darüber hinaus überprüfen, ob auch eine  $\alpha$ -SMA Färbung einen Benefit zur Identifizierung von verschiedenen Abstoßungsreaktionen oder -mustern erbringt.

#### **5.4. Hyperelastotische TXA im AMR-Kontext?**

Da auch nicht-hypoelastotische, also hyperelastotische arterielle Intimaverbreiterungen im AMR-Kontext zu beobachten sind,<sup>15,111,114</sup> könnte die Eingrenzung einer TXA durch den alleinigen Subtyp der von uns vorgeschlagenen HE-TXA einen Sensitivitätsverlust bedingen. Die vorbeschriebene Arbeit, welche bei DSA-positiven Patienten einen stärkeren Progress von einer Arteriosklerose zeigen, werten leider das Ausmaß der hyperelastotischen Anteile der Intima bis auf ein Beispielfoto nicht aus. Die Autoren werteten aber die hyperelastotischen

Anteile in ihrer Diskussion als „älter“, im Gegensatz zu zellreicheren und EZM-ärmeren Lagen der Verbreiterung lumennah.<sup>15</sup>

Die anderen beiden Arbeiten, wobei die erste eine Korrelation von einer „subklinischen AMR“ mit einem erhöhten cv-Score zeigt<sup>111</sup> und die zweite eine Korrelation von DSA mit einer schweren „Arteriosklerose“,<sup>111</sup> werteten allein das Ausmaß der Lumeneinengung aus ohne auf hypo- und hyperelastotische Anteile der arteriellen Intimaverbreiterungen einzugehen. Die jeweils vorgenommene Gleichsetzung der arteriellen Intimaverbreiterung mit einer Arteriosklerose impliziert hier aber, dass auch hyperelastotische Intimaverbreiterungen berücksichtigt worden sein müssen.<sup>111,114</sup>

Insgesamt wird aus der in dieser Arbeit in weitem Maße umfassend vorgestellten Studienlage weder die Häufigkeit klar, noch, ob diese wirklich durch eine AMR verursacht ist. Diese Möglichkeit muss aber durch die vorgestellten Studien in Betracht gezogen werden. Alternativ zur Hypothese der AMR-verursachten Hyperelastose könnte gleichermaßen eine voranschreitende Arteriosklerose, welche sich ebenso manifestiert<sup>138</sup> zu dieser führen, anders als zu einer hypoelastotischen TXA.

Weiterführende Arbeiten müssen klären, ob und wann es zu einer hyperelastotischen TXA im Abstoßungs- und speziell im AMR-Kontext kommt und ob dieser Subtyp somit in die Diagnostik miteinbezogen werden soll.

## 5.5. Schlechtes Transplantatüberleben korreliert mit TXA

Trotz der heterogenen TXA-Definitionen sprechen mehrere Studien für eine Prognoserelevanz der arteriellen Intimaverbreiterung und ihrer unterschiedlichen Subtypen.

So zeigte eine ältere Studie an Protokollbiopsien, die aber nicht zwischen einer AMR und TCMR unterschied, ein verschlechtertes Transplantatoutcome von Biopsien, welche eine „chronische Allograftnephropathie“ zusammen mit einer arteriellen Intimaverbreiterung aufwiesen.<sup>160</sup> Auch eine andere Studie zeigte, dass eine arterielle Intimaverbreiterung in 3-Monats-Protokollbiopsien mit einer erhöhtem Transplantatverlust oder einer schlechteren Nierenfunktion im Verlauf korrelierte.<sup>124</sup>

Auch im Zusammenhang mit DSA ergibt sich eine Outcomerelevanz. Eine ältere prospektive Studie, die Transplantatverluste durch den histologischen Nachweis einer chronischen „vaskulären“ Abstoßung erklärte, zeigte, dass die Patienten signifikant häufiger DSA aufwiesen, als Patienten ohne eine chronische „vaskuläre“ Abstoßung mit einem Transplantatverlust.<sup>161</sup> Eine andere prospektive Beobachtungsstudie zeigte eine verschlechtertes Transplantatüberleben, aber auch eine erhöhte Mortalität bei Patienten mit DSA und einer „schweren Arteriosklerose“ in Nierentransplantaten, welche als Banff-Kriterien cv 2 und 3, also rein über eine arterielle Intimaverbreiterung mit einer Lumeneinengung von  $\geq 26\%$  definiert waren.<sup>114</sup>

Eine andere Studie konnte allerdings keine Korrelation eines erhöhten cv-Scores mit einem verschlechterten Transplantationsüberleben finden.<sup>3</sup>

Unsere Studie zeigte ein der TG ähnlich schlechtes Transplantatüberleben über alle TXA-Patienten hinweg; ungefähr ein Drittel aller Patienten verloren ihr Transplantat bereits nach  $\sim 1$  Jahr.<sup>162</sup> Eine Korrelation der TG und TXA ist lange bekannt<sup>163</sup> und auch deren beider Auftreten wurde in einer Studie mit einem schlechteren Transplantatüberleben in Verbindung gebracht.<sup>113</sup> Unsere Studie erlaubt es anzunehmen, dass wenn sich die AMR auf das mikro- und makrovaskuläre Kompartiment bezieht, dies sogar mit einer noch schlechteren Prognose einhergeht, da die TXA-Patienten, welche noch zusätzlich eine TG ( $cg>0$ ) aufwiesen, ein signifikant schlechteres Transplantatüberleben zeigten als die Patienten ohne TG ( $cg=0$ ) ( $p=0,015$ ). Vor dem Hintergrund der von uns bestätigten Prognoserelevanz insbesondere mit gleichzeitig auftretender TG, wird ebenso untermauert, dass die TXA Diagnosekriterium einer AMR bleiben sollte.

## 5.6. Limitationen der vorliegenden Arbeit

Eine Schwachstelle dieser Arbeit ist das retrospektive und monozentrische Design. Durch die relative Seltenheit der TXA, die in der vorliegenden Arbeit bei nur 5,9% der Biopsien mit

unseren Einschlusskriterien lag, wird im prospektiven Setting ein langer Beobachtungszeitraum an einem oder mehreren Instituten nötig sein, um genügend Patienten mit einer TXA und dann auch mit den jeweiligen Subtypen für eine Studie zu gewinnen. Nichtsdestotrotz sollten solche am besten prospektive multizentrische Studien bezüglich der TXA und ihrer Manifestationsmuster angestrebt werden, um die verschiedenen Subtypen im Kontext der AMR und anderer Abstoßungsreaktionen noch genauer einordnen zu können.

Aufgrund einer zeitlich limitierten ethischen Genehmigung erfolgte die Untersuchung des eher älteren Studienkollektivs ohne weitere Aktualisierungsmöglichkeit. Allerdings erfolgte eine vollständige Aufarbeitung der Biopsien nach der Banff-Klassifikation von 2019<sup>7</sup> und mit Projektion auf die Banff Klassifikation von 2022.<sup>10</sup>

Daraus ergibt sich die Hauptlimitation unserer Arbeit der kleinen Kohortengröße,

Durch die noch kleineren Kohortengrößen der jeweils kombinierten Subtypen war kein sinnhafter Vergleich mehr unter den 7 Subtypen möglich; der Vergleich wurde durch die große Überschneidungsmenge erschwert. Entsprechend entschieden wir uns für den oben vorgestellten Vergleich von jeweils positiven und negativen Kriterien bei allen TXAen.

Eine weitere Limitation unserer Arbeit ist das Fehlen einer Vergleichsgruppe ohne AMR-Parameter, durch die unsere Subtypen potenziell im Vergleich der AMR zugeordnet werden hätten können. Dadurch konnten wir die Zuordnung zur AMR und auch zur TCMR nur durch die absoluten Häufigkeiten der anderen AMR- oder TCMR-Parametern aufzeigen.

Bezogen auf die Definitionen unserer Subtypen, aber auch auf die Auswertung von Arterien ist generell zu beachten, dass durch ein Stichprobenproblem an den relativ kleinen Biopsien die Aussagekraft eingeschränkt ist.

Einerseits kann durch Vielzahl der Arterien in der Niere kein Gefäß im Verlauf erneut untersucht werden. Auch kann sich die TXA unterschiedlich in unterschiedlichen Gefäßen präsentieren und durch den nur kleinen getroffenen Ausschnitt der Biopsie können die getroffene(n) Arterie(n) nicht repräsentativ für die Gesamtheit der Arterien stehen. Auch ist es möglich, dass überhaupt keine Arterie in einer Biopsie getroffen wird und das Vorliegen einer TXA überhaupt nicht ausgewertet werden kann und potenziell übersehen wird. Auch kann nur eine nicht pathologisch-veränderte Arterie getroffen sein, obwohl andere Arterien TXA-Merkmale aufweisen. Andersherum kann bei einer vorliegenden Arterie mit pathologischen Veränderungen nicht auf das Ausmaß und die dominierende Ausprägung aller Arterien in der Niere rückgeschlossen werden.

Aber auch bei nur tangential angeschnittenen Arterien, können sich Gegebenheiten anders präsentieren. Dies kann anhand einer möglichen Fehleinschätzung des geschätzten Ausmaßes der Lumeneinengung an einer solchen Arterie exemplarisch verdeutlicht werden. Die Lumeneinengung könnte sich hier beispielsweise stärker oder milder ausgeprägt

präsentieren, als sie es in der Realität ist. Durch solche Fehlerquellen ist es auch besonders schwierig die unterschiedlichen Ausprägungen einer Gruppe zuzuordnen und reproduzierbar Unterschiede in den Gruppen zu erheben.

Eine weitere Limitation unserer Arbeit ist, dass wir unsere Biopsien nicht auf den „Additional Diagnostic Parameter“ der PTCML untersucht haben. Dadurch könnte die von uns genannte Anzahl der Biopsien, die laut uns keine AMR-Diagnose erreichten, falsch niedrig sein. Hierdurch könnten einerseits weniger Biopsien einer AMR nur durch unsere TXA-Subtypen zuzuschlagen sein, wenn diese bereits durch eine PTCML eine AMR erreicht hätten. Andererseits sprächen potenziell noch mehr AMR-Diagnosen durch die PTCML im TXA-Kollektiv noch eher für die Zugehörigkeit der TXA zur (c)AMR.

## **5.7. Zusammenfassung, Ausblick und Empfehlung für die Praxis**

Das erste Ziel dieser Arbeit ist es, die Forschung bezüglich der TXA im Hinblick auf ihre Manifestationsmuster und ihren Zusammenhang mit der AMR und TCMR erneut anzuregen. Das zweite Ziel war es die morphologischen Subtypen der FC-, LCA- und HE-TXA bezüglich anderer AMR- und TCMR-Parameter, klinischer und epidemiologischer Daten und des Transplantatüberlebens zu vergleichen.

Durch unsere Daten wird untermauert, dass die Subtypen der FC-, HE- und LCA-TXA häufig zusammen mit anderen AMR- und TCMR-Parametern auftreten. Es sollte in weiterführenden Studien geprüft werden, ob die TXA, genau wie die Arteritis<sup>10</sup> als Hybridläsion in der Banff-Klassifikation anerkannt bleiben sollte. Das Streichen der TXA aus den Diagnosekriterien der AMR bedeutet hingegen derzeit einen Sensitivitätsverlust in der AMR-Diagnostik unbekannter Größe. Auch unsere Daten verdeutlichen, dass vor dem Hintergrund der Prognoserelevanz der Läsion,<sup>15,114</sup> gerade auch im Zusammenhang mit der TG, die TXA im AMR-Kontext nicht übersehen werden darf.

Hauptkritikpunkt der Banff-Klassifikation ist die schlechte Spezifität der TXA.

Vor dem Hintergrund der bereits in 3 Kategorien definierten AMR-Diagnose in der Banff-Klassifikation verliert dieses Argument bereits an Wichtigkeit.<sup>10</sup> Auch wurden nicht-histologische Diagnostikverfahren identifiziert, wie das „Molecular Microscope Diagnostic System“,<sup>164</sup> welche ebenso unabhängig die Richtigkeit der „AMR-Diagnose“ überprüfen können. Aber auch andere Verfahren, wie von uns vorgestellte Transkriptomanalysen<sup>165</sup> könnten in Zukunft angewandt werden, eine mechanistische Zuordnung zwischen AMR und Borderline oder TCMR vorzunehmen und dadurch auch dazu beitragen, eine Biopsie mit oder ohne TXA mechanistisch richtig zuzuordnen.

Aber auch bezogen auf die histologische Diagnose der TXA kann das Argument an Relevanz verlieren, wenn die TXA durch die von uns vorgestellten Subtypen der FC-, LCA- und HE-TXA

besser definiert ist. Auch die Reproduzierbarkeit könnte unter genaueren Definitionskriterien verbessert werden. Eine Ausschlussdiagnoseformulierung könnte bei ausreichend guten Definitionskriterien hinfällig

Vor diesem Hintergrund empfehlen wir auf der Basis unserer Daten die routinemäßige Färbung von elastischen Fasern, um die von uns am häufigsten beobachtete HE-TXA zu erkennen. Die Dokumentation von leukozyteninfiltrierten oder schaumzelligen TXAen könnte durch die Assoziation mit der Arteritis und einem früheren Auftreten durchaus für Therapieentscheidungen relevant werden, da bei einer Aktivitätskomponente eher ein Therapieansprechen zu erwarten ist als bei einem fibrotischen Umbau ohne Aktivitätskomponente. Die LCA-Färbung könnte helfen leukozyteninfiltrierte TXAen zu erkennen, welche lichtmikroskopisch noch nicht sicher identifizierbar waren. Ob sich durch die LCA-Färbung aber ein Benefit für die klinische Praxis ableitet, müssten weiterführende Studien überprüfen.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Wirths K, Thomas M, Dieplinger G, et al. Kidney transplant arteriopathy revisited. *J Nephrol* 2025, in press doi: 10.1007/s40620-025-02308-3.
2. El-Zoghby ZM, Stegall MD, Lager DJ, et al. Identifying specific causes of kidney allograft loss. *Am J Transplant* 2009; **9**(3): 527-35.
3. Einecke G, Sis B, Reeve J, et al. Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. *Am J Transplant* 2009; **9**(11): 2520-31.
4. Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H, et al. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: The Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int* 1993; **44**(2): 411-22.
5. Callemeyn J, Lamarthe B, Koenig A, Koshy P, Thaunat O, Naesens M. Allore cognition and the spectrum of kidney transplant rejection. *Kidney Int* 2022; **101**(4): 692-710.
6. Lebraud E, Eloudzeri M, Rabant M, Lamarthe B, Anglicheau D. Microvascular Inflammation of the Renal Allograft: A Reappraisal of the Underlying Mechanisms. *Front Immunol* 2022; **13**: 864730.
7. Loupy A, Haas M, Roufosse C, et al. The Banff 2019 Kidney Meeting Report (I): Updates on and clarification of criteria for T cell- and antibody-mediated rejection. *Am J Transplant* 2020; **20**(9): 2318-31.
8. Roufosse C, Simmonds N, Clahsen-Van Groningen M, et al. A 2018 Reference Guide to the Banff Classification of Renal Allograft Pathology. *Transplantation* 2018; **102**(11): 1795-814.
9. Roufosse C, Naesens M, Haas M, et al. The Banff 2022 Kidney Meeting Work Plan: Data-driven refinement of the Banff Classification for renal allografts. *Am J Transplant* 2024; **24**(3): 350-61.
10. Naesens M, Roufosse C, Haas M, et al. The Banff 2022 Kidney Meeting Report: Reappraisal of microvascular inflammation and the role of biopsy-based transcript diagnostics. *Am J Transplant* 2024; **24**(3): 338-49.
11. Colvin RB. Antibody-Mediated Renal Allograft Rejection: Diagnosis and Pathogenesis. *J Am Soc Nephrol* 2007; **18**(4): 1046-56.
12. Cornell LD, Smith RN, Colvin RB. Kidney transplantation: Mechanisms of rejection and acceptance. *Annu Rev Pathol* 2008; **3**: 189-220.
13. Nickeleit V, Mengel M, Colvin RB. Renal Transplant Pathology. In: Jennette JC, Olson JL, Silva FG, eds. *Heptinstall's Pathology of the Kidney* 7ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins/ Wolter Kluwer; 2015: 1321-460.
14. Hill GS, Nochy D, Loupy A. Accelerated arteriosclerosis: A form of transplant arteriopathy. *Curr Opin Organ Transplant* 2010; **15**(1): 11-5.
15. Hill GS, Nochy D, Bruneval P, et al. Donor-specific antibodies accelerate arteriosclerosis after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2011; **22**(5): 975-83.
16. Shimizu T, Toma H, Shibahara R, et al. Clinical and pathological analyses of chronic vascular rejection after kidney transplantation. *Nephrology* 2015; **2**: 20-5.
17. Shimizu T, Omoto K, Inui M, Nozaki T, Takagi T, Ishida H. Clinicopathological Analyses of Chronic Renal Allograft Arteriopathy after Kidney Transplantation. *Nephron* 2023; **147**: 22-7.
18. Wieczorek G, Bigaud M, Menninger K, et al. Acute and chronic vascular rejection in nonhuman primate kidney transplantation. *Am J of Transplant* 2006; **6**(6): 1285-96.
19. Zheng Q, Liu S, Song Z. Mechanism of arterial remodeling in chronic allograft vasculopathy. *Front Med* 2011; **5**(3): 248-53.
20. Hume DM, Merrill JP, Miller BF, Thorn GW. Experiences with renal homotransplantation in the human: Report of nine cases. *J Clin Invest* 1955; **34**(2): 327-82.
21. Porter KA, Thomson WB, Owen K, Kenyon JR, Mowbray JF, Peart WS. Obliterative vascular changes in four human kidney homotransplants. *Br Med J* 1963; **14**(2): 639-45.
22. Kumbala D, Zhang R. Essential concept of transplant immunology for clinical practice. *World J Transplant* 2013; **3**(4): 113-8.

23. Rock KL, Reits E, Neefjes J. Present Yourself! By MHC Class I and MHC Class II Molecules. *Trends Immunol* 2016; **37**(11): 724-37.
24. Strom TB, Tilney NL, Paradysz JM, Bancewicz J, Carpenter CB. Cellular Components of Allograft Rejection: Identity, Specificity, and Cytotoxic Function of Cells Infiltrating Acutely Rejecting Allografts. *J Immunol* 1977; **118**(6): 2020-6.
25. Siu JHY, Surendrakumar V, Richards JA, Pettigrew GJ. T cell allorecognition pathways in solid organ transplantation. *Front Immunol* 2018; **9**(2548).
26. Smith-Garvin JE, Koretzky GA, Jordan MS. T Cell Activation. *Annu Rev Immunol* 2009; **27**: 591-619.
27. Clatworthy MR. B-cell regulation and its application to transplantation. *Transpl Int* 2014; **27**(2): 117-28.
28. Bishop GA, Hostager BS. B lymphocyte activation by contact-mediated interactions with T lymphocytes. *Curr Opin Immunol* 2001; **13**(3): 278-85.
29. Goodnow CC, Vinuesa CG, Randall KL, MacKay F, Brink R. Control systems and decision making for antibody production. *Nat Immunol* 2010; **11**(8): 681-8.
30. Zhang J, Chan EYT, MacLennan ICM, Lane PJL, Liu Y-J. Sites of specific B cell activation in primary and secondary responses to T cell-dependent and T cell-independent antigens. *European Journal of Immunology* 2007; **21**(12): 2951-62.
31. Bishop GA, Haughton G. Induced differentiation of a transformed clone of Ly-1+ B cells by clonal T cells and antigen. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1986; **83**(19): 7410-4.
32. Zhang R. Donor-specific antibodies in kidney transplant recipients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2018; **13**(1): 182-92.
33. Lee PC, Zhu L, Terasaki PI, Everly MJ. HLA-specific antibodies developed in the first year posttransplant are predictive of chronic rejection and renal graft loss. *Transplantation* 2009; **88**(4): 568-74.
34. Everly MJ, Rebellato LM, Haisch CE, et al. Incidence and impact of de Novo donor-specific alloantibody in primary renal allografts. *Transplantation* 2013; **95**(3): 410-7.
35. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, et al. Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am J Transplant* 2012; **12**(5): 1157-67.
36. Loupy A, Lefaucheur C, Vernerey D, et al. Complement-Binding Anti-HLA Antibodies and Kidney-Allograft Survival. *N Engl J Med* 2013; **369**(13): 1215-26.
37. Susal C, Wettstein D, Dohler B, et al. Association of Kidney Graft Loss with de Novo Produced Donor-Specific and Non-Donor-Specific HLA Antibodies Detected by Single Antigen Testing. *Transplantation* 2015; **99**(9): 1976-80.
38. Lefaucheur C, Viglietti D, Mangiola M, Loupy A, Zeevi A. From Humoral Theory to Performant Risk Stratification in Kidney Transplantation. *J Immunol Res* 2017; **2017**.
39. Heinemann FM. HLA genotyping and antibody characterization using the Luminex™ multiplex technology. *Transfus Med Hemother* 2009; **36**(4): 273-8.
40. Schnaيدt M, Weinstock C, Jurisic M, Schmid-Horch B, Ender A, Wernet D. HLA antibody specification using single-antigen beads-a technical solution for the prozone effect. *Transplantation* 2011; **92**(5): 510-5.
41. Dieplinger G, Ditt V, Arns W, et al. Impact of de novo donor-specific HLA antibodies detected by Luminex solid-phase assay after transplantation in a group of 88 consecutive living-donor renal transplantations. *Transpl Int* 2014; **27**(1): 60-8.
42. Willicombe M, Brookes P, Sergeant R, et al. De novo DQ donor-specific antibodies are associated with a significant risk of antibody-mediated rejection and transplant glomerulopathy. *Transplantation* 2012; **94**(2): 172-7.
43. Terasaki PI, Ozawa M, Castro R. Four-year follow-up of a prospective trial of HLA and MICA antibodies on kidney graft survival. *Am J Transplant* 2007; **7**(2): 408-15.
44. Nunez-Roldan A, Wichmann I, Saez C, et al. Anti-glutathione S-transferase T1 antibody-mediated rejection in C4d-positive renal allograft recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2008; **23**(7): 2393-8.

45. Ji S, Chen J, Liu Z, et al. De novo development of circulating anti-endothelial cell antibodies rather than pre-existing antibodies is associated with post-transplant allograft rejection. *Kidney Int* 2010; **79**(6): 655-62.
46. Dragun D, Müller DN, Bräsen JH, et al. Angiotensin II Type 1-Receptor Activating Antibodies in Renal-Allograft Rejection. *N Engl J Med* 2005; **352**(6): 558-69.
47. Valenzuela NM, Reed EF. Antibodies in Transplantation: The Effects of HLA and Non-HLA Antibody Binding and Mechanisms of Injury. *Methods Mol Biol* 2013; **1034**: 41-70.
48. Afrouzian M, Kozakowski N, Liapis H, et al. Thrombotic Microangiopathy in the Renal Allograft: Results of the TMA Banff Working Group Consensus on Pathologic Diagnostic Criteria. *Transpl Int* 2023; **36**: 11590.
49. Biglarnia AR, Huber-Lang M, Mohlin C, Ekdahl KN, Nilsson B. The multifaceted role of complement in kidney transplantation. *Nat Rev Nephrol* 2018; **14**(12): 767-81.
50. Valenzuela NM, McNamara JT, Reed EF. Antibody-mediated graft injury: Complement-dependent and complement-independent mechanisms. *Curr Opin Immunol* 2014; **19**(1): 33-40.
51. Murata K, Baldwin WM. Mechanisms of complement activation, C4d deposition, and their contribution to the pathogenesis of antibody-mediated rejection. *Transplant Rev* 2009; **23**(3): 139-50.
52. Goers JW, Schumaker VN, Glovsky MM, Rebek J, Mueller-Eberhard HJ. Complement Activation by a Univalent Hapten-Antibody Complex *J Biol Chem* 1975; **250**(13): 4918-25.
53. Augener W, Grey HM, Cooper NR, Müller-Eberhard HJ. The reaction of monomeric and aggregated immunoglobulins with Cl. *Immunochemistry* 1971; **8**(11): 1011-20.
54. Sledge CR, Bing DH. Binding properties of the human complement protein Clq. *J Biol Chem* 1973; **248**(8): 2818-23.
55. Ziccardi RJ. Activation of the early components of the classical complement pathway under physiologic conditions. *J Immunol* 1981; **126**(5): 1769-73.
56. Feucht HE, Felber E, Gokel MJ, et al. Vascular deposition of complement-split products in kidney allografts with cell-mediated rejection. *Clin Exp Immunol* 1991; **86**(3): 464-70.
57. Hughes PD, Cohney SJ. Modifiers of complement activation for prevention of antibody-mediated injury to allografts. *Curr Opin Immunol* 2011; **16**(4): 425-33.
58. Monsinjon T, Gasque P, Chan P, Ischenko A, Brady JJ, Fontaine M. Regulation by complement C3a and C5a anaphylatoxins of cytokine production in human umbilical vein endothelial cells. *FASEB J* 2003; **17**(9): 1003-14.
59. Dempsey PW, Allison ME, Akkaraju S, Goodnow CC, Fearon DT. C3d of complement as a molecular adjuvant: bridging innate and acquired immunity. *Science* 1996; **271**(5247): 348-50.
60. Ikeda K, Nagasawa K, Horiuchi T, Tsuru T, Nishizaka H, Niho Y. C5a induces tissue factor activity on endothelial cells. *Thromb Haemost* 1997; **77**(2): 394-8.
61. Foreman KE, Vaporciyan AA, Bonish BK, et al. C5a-induced expression of P-selectin in endothelial cells. *J Clin Invest* 1994; **94**(3): 1147-55.
62. Baldwin WM, Larsen CP, Fairchild RL. Innate immune responses to transplants: A significant variable with cadaver donors. *Immunity* 2001; **14**(4): 369-76.
63. Baldwin WM, Kasper EK, Zachary AA, Wasowska BA, Rodriguez ER. Beyond C4d: Other Complement-Related Diagnostic Approaches to Antibody-Mediated Rejection. *Am J Transplant* 2004; **4**(3): 311-8.
64. Torzewski J, Oldroyd R, Lachmann P, Fitzsimmons C, Proudfoot D, Bowyer D. Complement-induced release of monocyte chemotactic protein-1 from human smooth muscle cells. A possible initiating event in atherosclerotic lesion formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; **16**(5): 673-7.
65. Lucchiari N, Panajotopoulos N, Xu C, et al. Antibodies eluted from acutely rejected renal allografts bind to and activate human endothelial cells. *Hum Immunol* 2000; **61**(5): 518-27.
66. Yamakuchi M, Kirkiles-Smith NC, Ferlito M, et al. Antibody to human leukocyte antigen triggers endothelial exocytosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; **104**(4): 1301-6.
67. Valenzuela NM, Longsheng H, Xiu-Da S, et al. Blockade of P-selectin is Sufficient to Reduce MHC I Antibody-Elicited Monocyte Recruitment In Vitro and In Vivo. *Am J Transplant* 2013; **13**(2): 299-311.

68. Lee CY, Lotfi-Emran S, Erdinc M, et al. The Involvement of FcR mechanisms in Antibody-Mediated Rejection. *Transplantation* 2007; **84**(10): 1324-34.
69. Heinemann FM, Jindra PT, Bockmeyer CL, et al. Glomerulocapillary miRNA response to HLA-class i antibody in vitro and in vivo. *Sci Rep* 2017; **7**(1): 1-11.
70. Resch T, Fabritius C, Ebner S, Ritschl P, Kotsch K. The Role of Natural Killer Cells in Humoral Rejection. *Transplantation* 2015; **99**(7): 1335-40.
71. Legris T, Picard C, Todorova D, et al. Antibody-dependent NK cell activation is associated with late kidney allograft dysfunction and the complement-independent alloreactive potential of donor-specific antibodies. *Front Immunol* 2016; **11**(7): 288.
72. Morrell CN, Murata K, Swaim AM, et al. In vivo platelet-endothelial cell interactions in response to major histocompatibility complex alloantibody. *Circ Res* 2008; **102**(7): 777-85.
73. Agustian PA, Bockmeyer CL, Modde F, et al. Glomerular mRNA expression of prothrombotic and antithrombotic factors in renal transplants with thrombotic microangiopathy. *Transplantation* 2013; **95**(10): 1242-8.
74. Hall AV, Jevnikar AM. Significance of endothelial cell survival programs for renal transplantation. *Am J Kidney Dis* 2003; **41**(6): 1140-54.
75. Plissonnier D, Henaff M, Poncet P, et al. Involvement of antibody-dependent apoptosis in graft rejection. *Transplantation* 2000; **69**(12): 2601-8.
76. Aljabri A, Vijayan V, Stankov M, et al. HLA class II antibodies induce necrotic cell death in human endothelial cells via a lysosomal membrane permeabilization-mediated pathway. *Cell Death Dis* 2019; **10**(3): 235.
77. Hall DS, Roberts EM, Ferguson S, Wang Z, Davies JD. Increasing transplant mass results in long-term allograft survival and recovery from transplant vasculopathy. *J Clin Immunol* 2003; **23**(3): 162-74.
78. Avihingsanon Y, Ma N, Csizmadia E, et al. Expression of protective genes in human renal allografts: A regulatory response to injury associated with graft rejection. *Transplantation* 2002; **73**(7): 1079-85.
79. Li F, Zhang X, Jin Y-P, Mulder A, Reed EF. Antibody ligation of human leukocyte antigen class I molecules stimulates migration and proliferation of smooth muscle cells in a focal adhesion kinase-dependent manner. *Hum Immunol* 2011; **72**(12): 1150-9.
80. Bian H, Reed EF. Alloantibody-mediated class I signal transduction in endothelial cells and smooth muscle cells: enhancement by IFN-gamma and TNF-alpha. *J Immunol* 1999; **163**: 1010-8.
81. Galvani S, Trayssac M, Auge N, et al. A Key Role for Matrix Metalloproteinases and Neutral Sphingomyelinase-2 in Transplant Vasculopathy Triggered by Anti-HLA Antibody. *Circulation* 2011; **124**(24): 2725-34.
82. Trayssac M, Galvani S, Auge N, et al. Role of Sphingosine-1-Phosphate in Transplant Vasculopathy Evoked by Anti-HLA Antibody. *Am J Transplant* 2015; **15**(8): 2050-61.
83. Jabs WJ, Sedlmeyer A, Ramassar V, et al. Heterogeneity in the Evolution and Mechanisms of the Lesions of Kidney Allograft Rejection in Mice. *Am J Transplant* 2003; **3**(12): 1501-9.
84. Russell PS, Chase CM, Winn HJ, Colvin RB. Coronary atherosclerosis in transplanted mouse hearts: I. Time course and immunogenetic and immunopathological considerations. *Am J Pathol* 1994; **144**(2): 260-74.
85. Smith RN, Kawai T, Boskovic S, et al. Chronic antibody mediated rejection of renal allografts: Pathological, serological and immunologic features in nonhuman primates. *Am J Transplant* 2006; **6**(8): 1790-8.
86. Smith RN, Kawai T, Boskovic S, et al. Four stages and lack of stable accommodation in chronic alloantibody-mediated renal allograft rejection in cynomolgus monkeys. *Am J Transplant* 2008; **8**(8): 1662-72.
87. Shimizu A, Yamada K, Sachs DH, Colvin RB. Mechanisms of Chronic Renal Allograft Rejection. II. Progressive Allograft Glomerulopathy in Miniature Swine. *Laboratory Investigation* 2002; **82**(6): 673-86.
88. Hirohashi T, Uehara S, Chase CM, et al. Complement independent antibody-mediated endarteritis and transplant arteriopathy in mice. *Am J Transplant* 2010; **10**(3): 510-7.

89. Koch M, Broecker V, Heratizadeh A, et al. Induction of chronic renal allograft injury by injection of a monoclonal antibody against a donor MHC Ib molecule in a nude rat model. *Transpl Immunol* 2008; **19**(3-4): 187-91.
90. Hidalgo LG, Campbell PM, Sis B, et al. De novo donor-specific antibody at the time of kidney transplant biopsy associates with microvascular pathology and late graft failure. *Am J Transplant* 2009; **9**(11): 2532-41.
91. Trpkov K, Campbell P, Pazderka F, Cockfield S, Solez K, Halloran PF. Pathologic features of acute renal allograft rejection associated with donor-specific antibody: Analysis using the Banff grading schema. *Transplantation* 1996.
92. Yamamoto T, Watarai Y, Takeda A, et al. De Novo Anti-HLA DSA Characteristics and Subclinical Antibody-Mediated Kidney Allograft Injury. *Transplantation* 2016; **100**(10): 2194-202.
93. Collins AB, Schneeberger EE, Pascual MA, et al. Complement activation in acute humoral renal allograft rejection: diagnostic significance of C4d deposits in peritubular capillaries. *J Am Soc Nephrol* 1999; **10**(10): 2208-14.
94. Mauiyyedi S, Crespo M, Collins AB, et al. Acute Humoral Rejection in Kidney Transplantation: II. Morphology, Immunopathology, and Pathologic Classification. *J Am Soc Nephrol* 2002; **13**(3): 779-87.
95. Magil AB, Tinckam K. Monocytes and peritubular capillary C4d deposition in acute renal allograft rejection. *Kidney Int* 2003; **63**(5): 1888-93.
96. Nickeleit V, Zeiler M, Gudat F, Thiel G, Mihatsch MJ. Detection of the complement degradation product C4d in renal allografts: Diagnostic and therapeutic implications. *J Am Soc Nephrol* 2002; **13**(1): 242-51.
97. Regele H, Böhmig GA, Habicht A, et al. Capillary deposition of complement split product C4d in renal allografts is associated with basement membrane injury in peritubular and glomerular capillaries: A contribution of humoral immunity to chronic allograft rejection. *J Am Soc Nephrol* 2002; **13**(9): 2371-80.
98. Vongwiwatanaa A, Gourishankara S, Campbella PM, Solez K, Halloran PF. Peritubular Capillary Changes and C4d Deposits Are Associated with Transplant Glomerulopathy but Not IgA Nephropathy. *Am J Transplant* 2004; **4**(1): 124-9.
99. Papadimitriou JC, Drachenberg CB, Ramos E, et al. Antibody-mediated allograft rejection: Morphologic spectrum and serologic correlations in surveillance and for cause biopsies. *Transplantation* 2013; **95**(1): 128-36.
100. Feucht HE, Schneeberger H, Hillebrand G, et al. Capillary deposition of C4d complement fragment and early renal graft loss. *Kidney Int* 1993; **43**(6): 1333-8.
101. Lefaucheur C, Loupy A, Vernerey D, et al. Antibody-mediated vascular rejection of kidney allografts: A population-based study. *Lancet* 2013; **381**(9863): 313-9.
102. Ivanyi B. Transplant capillaropathy and transplant glomerulopathy: Ultrastructural markers of chronic renal allograft rejection. *Nephrol Dial Transplant* 2003; **18**(4): 655-60.
103. Banff Foundation for Allograft Pathology. Banff Classification for Renal Allograft Pathology, 2022. <https://banfffoundation.org/central-repository-for-banff-classification-resources-3/> (accessed 25.02. 2025).
104. Russell PS, Chase CM, Winn HJ, Colvin RB. Coronary atherosclerosis in transplanted mouse hearts. II. Importance of humoral immunity. *J Immunol* 1994; **152**(10): 5135-41.
105. Yacoub-Youssef H, Marcheix B, Calise D, et al. Chronic vascular rejection: Histologic comparison between two murine experimental models. *Transplant Proc* 2005; **37**(6): 2886-7.
106. Uehara S, Chase CM, Cornell LD, Madsen JC, Russell PS, Colvin RB. Chronic cardiac transplant arteriopathy in mice: Relationship of alloantibody, C4d deposition and neointimal fibrosis. *Am J Transplant* 2007; **7**(1): 57-65.
107. Madsen JC, Sachs DH, Fallon JT, Weissman NJ. Cardiac allograft vasculopathy in partially inbred miniature swine. I. Time course, pathology, and dependence on immune mechanisms. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; **111**(6): 1230-9.
108. Russell PS, Chase CM, Colvin RB. Coronary atherosclerosis in transplanted mouse hearts. IV Effects of treatment with monoclonal antibodies to intercellular adhesion molecule-1 and leukocyte function-associated antigen-1. *Transplantation* 1995; **60**(7).

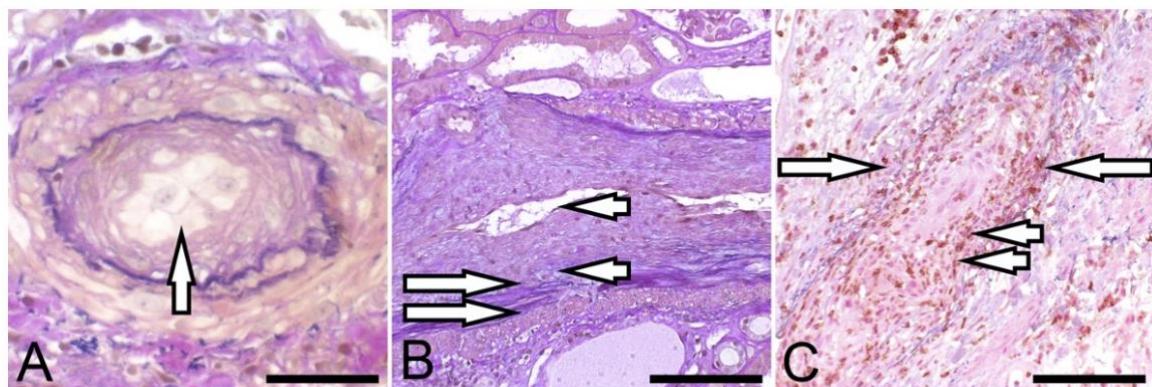
109. Nagano H, Libby P, Taylor MK, et al. Coronary arteriosclerosis after T-cell-mediated injury in transplanted mouse hearts: role of interferon-gamma. *Am J Pathol* 1998; **152**(5): 1187-97.
110. Hirohashi T, Chase CM, Della Pelle P, et al. A novel pathway of chronic allograft rejection mediated by NK cells and alloantibody. *Am J Transplant* 2012; **12**(2): 313-21.
111. Loupy A, Suberbielle-Boissel C, Hill GS, et al. Outcome of subclinical antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients with preformed donor-specific antibodies. *Am J Transplant* 2009; **9**(11): 2561-70.
112. Lerut E, Naesens M, Kuypers DR, Vanrenterghem Y, Damme BV. Subclinical Peritubular Capillaritis at 3 Months Is Associated With Chronic Rejection at 1 Year. *Transplantation* 2007; **83**(11): 1416-22.
113. Dobi D, Bodó Z, Kemény É, et al. Morphologic Features and Clinical Impact of Arteritis Concurrent with Transplant Glomerulopathy. *Pathol Oncol Res* 2016; **22**(1): 15-25.
114. Loupy A, Vernerey D, Viglietti D, et al. Determinants and Outcomes of Accelerated Arteriosclerosis: Major Impact of Circulating Antibodies. *Circ Res* 2015; **117**(5): 470-82.
115. Mauiyyedi S, Pelle PD, Saidman S, et al. Chronic humoral rejection: identification of antibody-mediated chronic renal allograft rejection by C4d deposits in peritubular capillaries. *J Am Soc Nephrol* 2001.
116. Nickeleit V, Poletti B, Colvin B. The Prognostic Significance of Specific Acute Renal Allograft Rejection Arterial Lesions in Acute Renal Allograft Rejection. *J Am Soc Nephrol* 1998; **9**(7): 1301-8.
117. Russell PS, Chase CM, Colvin RB. Alloantibody- and T cell-mediated immunity in the pathogenesis of transplant arteriosclerosis: lack of progression to sclerotic lesions in B cell-deficient mice. *Transplantation* 1997; **64**(11): 1531-6.
118. Delfs MW, Furukawa Y, Mitchell RN, Lichtman AH. CD8+ T cell subsets TC1 and TC2 cause different histopathologic forms of murine cardiac allograft rejection. *Transplantation* 2001; **71**(5): 606-10.
119. Sis B, Jhangri GS, Riopel J, et al. A new diagnostic algorithm for antibody-mediated microcirculation inflammation in kidney transplants. *Am J Transplant* 2012; **12**(5): 1168-79.
120. Uehara S, Chase CM, Kitchens WH, et al. NK Cells Can Trigger Allograft Vasculopathy: The Role of Hybrid Resistance in Solid Organ Allografts. *J Immunol* 2005; **175**(5): 3424-30.
121. Szeto W, Karasinskas AM, Kreisel D, Krupnick AS, Popma SH, Rosengard BR. Depletion of recipient CD4+ but not CD8+ T lymphocytes prevents the development of cardiac allograft vasculopathy. *Transplantation* 2002; **73**(7): 1116-22.
122. Matsuo K, Takebayashi S. Ultrastructure of microcirculation in renal grafts in patients with acute or chronic rejections. *Acta pathologica Japonica* 1985; **35**(5): 1123-34.
123. Gouldsbrough DR, Axelsen RA. Arterial endothelialitis in chronic renal allograft rejection: a histopathological and immunocytochemical study. *Nephrol Dial Transplant* 1994; **9**(1): 35-40.
124. Nankivell BJ, Fenton-Lee CA, Kuypers DRJ, et al. Effect of histological damage on long-term kidney transplant outcome. *Transplantation* 2001; **71**(4): 515-23.
125. Graham JA, Wilkinson RA, Hirohashi T, et al. Viral infection induces de novo lesions of coronary allograft vasculopathy through a natural killer cell-dependent pathway. *Am J Transplant* 2009; **9**(11): 2479-84.
126. Koenig A, Chen CC, Marcais A, et al. Missing self triggers NK cell-mediated chronic vascular rejection of solid organ transplants. *Nat Commun* 2019; **10**(1): 5350.
127. Hidalgo LG, Sis B, Sellares J, et al. NK cell transcripts and NK cells in kidney biopsies from patients with donor-specific antibodies: Evidence for NK cell involvement in antibody-mediated rejection. *Am J Transplant* 2010; **10**(8): 1812-22.
128. Yazdani S, Callemeyn J, Gazut S, et al. Natural killer cell infiltration is discriminative for antibody-mediated rejection and predicts outcome after kidney transplantation. *Kidney Int* 2019; **95**(1): 188-98.
129. Calvani J, Terada M, Lesaffre C, et al. In situ multiplex immunofluorescence analysis of the inflammatory burden in kidney allograft rejection: A new tool to characterize the alloimmune response. *Am J Transplant* 2020; **20**(4): 942-53.

130. Kitchens WH, Chase CM, Uehara S, et al. Macrophage depletion suppresses cardiac allograft vasculopathy in mice. *Am J Transplant* 2007; **7**(12): 2675-82.
131. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, et al. 2012 Revised International Chapel Hill consensus conference nomenclature of vasculitides. *Arthritis Rheum* 2013; **65**(1): 1-11.
132. Koutkia P, Mylonakis E, Rounds S, Erickson A. Leucocytoclastic vasculitis: An update for the clinician. *Scand J Rheumatol* 2001; **30**(6): 315-22.
133. Gwinner W, Erdbruegger U, Mengel M, et al. Scleroderma-like acute renal crisis in a patient with scleromyxedema. *Nephrol Dial Transplant* 2007; **22**(7): 2063-7.
134. Peeters P, Praet M, Van Vlem B, Naeyaert JM, Vanholder R. End-stage disease of native kidneys in a patient with biopsy-proven Arndt-Gottron scleromyxoedema and recurrence in the transplanted kidney. *Nephrol Dial Transplant* 2007; **22**(10): 3065-9.
135. Laszik ZG, Kambham N, Silva FG. Thrombotic Microangiopathies. In: Jennette JC, Olson JL, Silva FG, eds. *Heptinstall's Pathology of the Kidney* 7ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins/ Wolter Kluwer; 2015: 739-814.
136. Hommos MS, Glasscock RJ, Rule AD. Structural and Functional Changes in Human Kidneys with Healthy Aging. *J Am Soc Nephrol* 2017; **28**: 2838-44.
137. Denic A, Glasscock RJ, Rule AD. Structural and Functional Changes With the Aging Kidney. *Adv Chronic Kidney Dis* 2016; **23**(1): 19-28.
138. Olsen JL. Renal Disease Caused by Hypertension. In: Jennette JC, Olson JL, Silva FG, eds. *Heptinstall's Pathology of the Kidney* 7ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins/ Wolter Kluwer; 2015: 849-96.
139. Racusen LC, Colvin RB, Solez K, et al. Antibody-mediated rejection criteria - An addition to the Banff '97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant* 2003; **3**(6): 708-14.
140. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, et al. Banff '05 meeting report: Differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy ('CAN'). *Am J Transplant* 2007; **7**(3): 518-26.
141. Haas M, Sis B, Racusen LC, et al. Banff 2013 meeting report: Inclusion of C4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am J Transplant* 2014; **14**(2): 272-83.
142. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: Updates and future directions. *Am J Transplant* 2008; **8**(4): 753-60.
143. Loupy A, Haas M, Solez K, et al. The Banff 2015 Kidney Meeting Report: Current Challenges in Rejection Classification and Prospects for Adopting Molecular Pathology. *Am J Transplant* 2017; **17**(1): 28-41.
144. Haas M, Loupy A, Lefaucheur C, et al. The Banff 2017 Kidney Meeting Report: Revised diagnostic criteria for chronic active T cell-mediated rejection, antibody-mediated rejection, and prospects for integrative endpoints for next-generation clinical trials. *Am J Transplant* 2018; **18**(2): 293-307.
145. Roufosse C, Becker JU, Rabant M, et al. Proposed Definitions of Antibody-Mediated Rejection for Use as a Clinical Trial Endpoint in Kidney Transplantation. *Transpl Int* 2022; **35**.
146. Seron D, Moreso F, Ramon JM, et al. Protocol renal allograft biopsies and the design of clinical trials aimed to prevent or treat chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 2000; **69**(9): 1849-55.
147. Seron D, Moreso F. Transplant vasculopathy in early protocol renal allograft biopsies. *Transplant Proc* 1999; **31**(6): 2219-20.
148. Racusen LC, Solez K, Colvin RB, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999; **55**(2): 713-23.
149. Matsuo K, Takebayashi S. Ultrastructure of microcirculation in renal grafts in patients with acute or chronic rejections. *Acta Pathol Jpn* 1985; **35**(5): 1123-34.
150. Mihatsch MJ, Nickeleit V, Gudat F. Morphologic criteria of chronic renal allograft rejection. *Transplant Proc* 1999; **31**(1-2): 1295-7.
151. Kozakowski N, Böhmig GA, Exner M, et al. Monocytes/macrophages in kidney allograft intimal arteritis: No association with markers of humoral rejection or with inferior outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2009; **24**(6): 1979-86.
152. Böhmig GA, Regele H, Hörl WH. Protocol biopsies after kidney transplantation. *Transpl Int* 2005; **18**(2): 131-9.

153. Wehmeier C, Amico P, Hirt-Minkowski P, et al. Acute Rejection Phenotypes in the Current Era of Immunosuppression: A Single-Center Analysis. *Transplant Direct* 2017; **3**(3): e136.
154. Shimizu T, Ishida H, Hayakawa N, Shibahara R, Tanabe K. Clinical and Pathological Analyses of Cases of Acute Vascular Rejection After Kidney Transplantation. *Transplant Proc* 2017; **49**(10): 2251-5.
155. Shimizu T, Ishida H, Shirakawa H, et al. Clinicopathological analysis of acute vascular rejection cases after renal transplantation. *Clin Transplant* 2010; **24 Suppl 22**: 22-6.
156. Filippone EJ, Farber JL. The specificity of acute and chronic microvascular alterations in renal allografts. *Clin Transplant* 2013; **27**(6): 790-8.
157. Gibson IW, Gwinner W, Bröcker V, et al. Peritubular capillaritis in renal allografts : Prevalence, scoring system, reproducibility and clinicopathological correlates. *Am J Transplant* 2008; **8**(4): 819-25.
158. Basatemur GL, Jørgensen HF, Clarke MCH, Bennett MR, Mallat Z. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol* 2019; **16**(12): 727-44.
159. Isik FF, McDonald TO, Ferguson M, Yamanaka E, Gordon D. Transplant arteriosclerosis in a rat aortic model. *Am J Pathol* 1992; **141**(5): 1139-49.
160. Serón D, Moreso F, Ramón JM, et al. Protocol Renal Allograft Biopsies and the Design of Clinical Trials aimed to prevent or treat Chronic Allograft Nephropathy. *Transplantation* 2000; **69**(9): 1849-55.
161. Davenport A, Younie ME, Parsons JEM, Klouda PT. Development of cytotoxic antibodies following renal allograft transplantation is associated with reduced graft survival due to chronic vascular rejection. *Nephrol Dial Transplant* 1994; **9**: 1315-9.
162. Issa N, Cosio FG, Gloor JM, et al. Transplant glomerulopathy: risk and prognosis related to anti-human leukocyte antigen class II antibody levels. *Transplantation* 2008; **86**(5): 681-5.
163. Tuazon TV, Schneeberger EE, Bhan AK, et al. Mononuclear cells in acute allograft glomerulopathy. *Am J Pathol* 1987; **129**(1): 119-32.
164. Halloran PF, Madill-Thomsen KS, Reeve J. The Molecular Phenotype of Kidney Transplants: Insights From the MMDx Project. *Transplantation* 2024; **108**(1): 45-71.
165. Varol H, Ernst A, Cristoferi I, et al. Feasibility and Potential of Transcriptomic Analysis Using the NanoString nCounter Technology to Aid the Classification of Rejection in Kidney Transplant Biopsies. *Transplantation* 2023; **107**(4): 903-12.

## 7. Anhang

### 7.1. Abbildungsverzeichnis



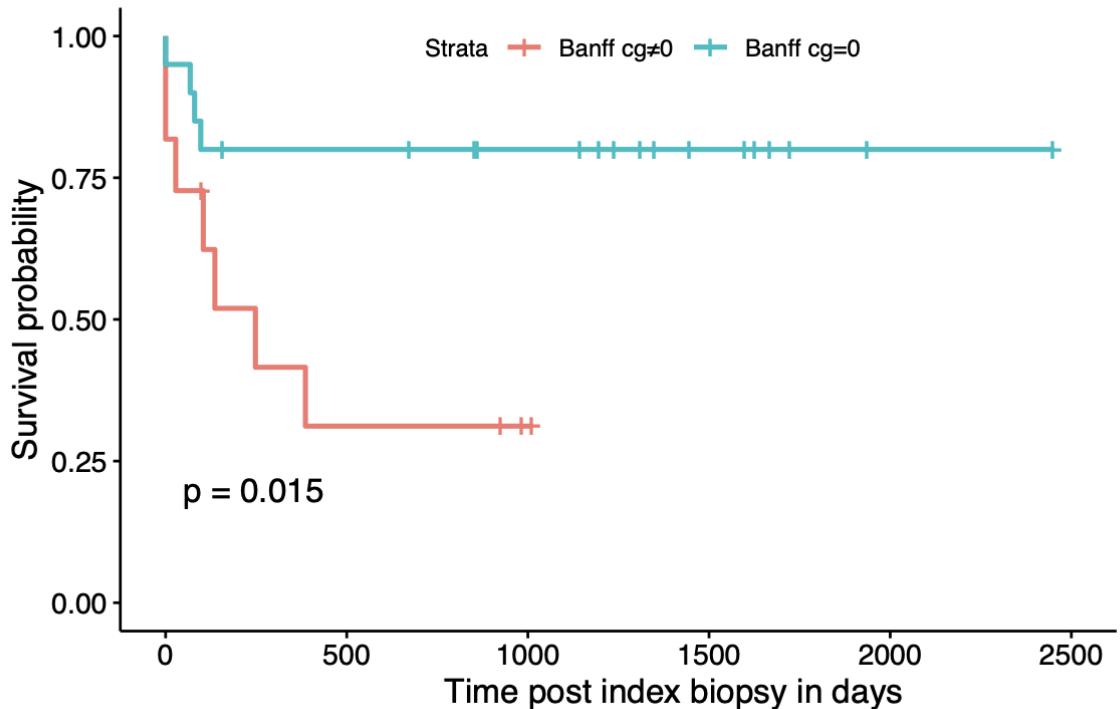
#### 7.1.1. Abbildung 1: Exemplarische Bilder des TXA-Spektrums<sup>1</sup>

A zeigt eine schwere obliterative schaumzellige (Pfeil) TXA (FC-TXA). B zeigt eine hypoelastotische Intimafibrose (HE-TXA), welche mehr als die Hälfte der verbreiterten Intima umfasst. Zwischen den kurzen Pfeilen befindet sich der hypoelastotischen Anteil der Intimaverbreiterung, zwischen den langen Pfeile befindet sich ein schmälerer Anteil einer hyperelastotischen Intimaverbreiterung. C zeigt eine Leukozyte common antigen (CD45) (kurze Pfeile) positive TXA (LCA-TXA) in der Immunperoxidase Färbung. Die langen Pfeile zeigen die Begrenzung der Intimaverbreiterung an. Färbungen: A und B Elastica-van Gieson, C LCA (CD45) Immunperoxidase mit Elastica und Hematoxylin-Co-Färbungen. Skalenleisten: 40µm in A, 125 µm in B und C.

| Index Bx   | 1 <sup>st</sup> FU Bx | 2 <sup>nd</sup> FU Bx | 3 <sup>rd</sup> FU Bx | 4 <sup>th</sup> FU Bx | 5 <sup>th</sup> FU Bx |
|------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| FC HE      | HE LCA+               |                       |                       |                       |                       |
| FC HE      |                       |                       |                       |                       |                       |
| FC HE      |                       |                       |                       |                       |                       |
| FC HE      |                       |                       |                       |                       |                       |
| FC HE      | FC HE                 |                       |                       |                       |                       |
| FC HE      | FC HE LCA+            |                       |                       |                       |                       |
| HE         |                       |                       |                       |                       |                       |
| HE LCA+    |                       |                       |                       |                       |                       |
| HE LCA+    | FC HE LCA+            |                       | FC HE                 |                       | HE LCA+               |
| HE LCA+    |                       | LCA+                  | HE LCA+               | HE LCA+               |                       |
| LCA+       |                       |                       |                       |                       |                       |
| LCA+       |                       |                       |                       |                       |                       |
| LCA+       |                       |                       |                       |                       |                       |
| LCA+       | FC HE LCA+            |                       | FC HE LCA+            |                       |                       |
| LCA+       | FC HE LCA+            |                       |                       |                       |                       |
| LCA+       |                       |                       |                       |                       |                       |
| LCA+       |                       |                       |                       |                       |                       |
| FC HE LCA+ |                       |                       |                       |                       |                       |
| FC HE LCA+ |                       |                       |                       |                       |                       |
| FC HE LCA+ |                       |                       |                       |                       |                       |
| FC HE LCA+ |                       |                       |                       |                       |                       |
| FC HE LCA+ |                       |                       |                       |                       |                       |
| FC HE LCA+ |                       |                       |                       |                       |                       |
| FC HE LCA+ |                       |                       |                       |                       |                       |
| FC HE LCA+ |                       |                       |                       |                       |                       |
| FC LCA+    |                       |                       |                       |                       |                       |

7.1.2. Abbildung 2: Evolution der TXA über Folgebiopsien<sup>1</sup>

Abbildung 2 zeigt die Evolution der jeweils linken Indexbiopsie (Index Bx), über die 1., 2., 3., 4., und 5. Follow-Up-Biopsie (1st, 2nd, 3rd, 4th and 5th FU Bx). Abkürzungen; FC (Schaumzellig), HE (hypoelastotische TXA), LCA+ (leukocyte common antigen CD 45 positive) TXA-Subtyp. Leere Boxen repräsentieren eine Follow-Up Biopsie ohne das Vorliegen einer TXA aus unserem Spektrum.



### 7.1.3. Abbildung 3: Tod-zensierte Transplantatüberlebenskurven der 33 Indexbiopsien mit und ohne TG<sup>1</sup>

Abbildung 3 zeigt die Tod-zensierte Transplantatüberlebenskurven der Indexbiopsien mit einer oder mehreren TXA-Subtypen getrennt nach dem Vorhandensein einer Transplantglomerulopathie nach den Definitionskriterien der Banff-Klassifikation 2022. Die Kaplan-Meier Kurve für die Indexbiopsien mit einer Transplantatglomerulopathie ( $cg \neq 0$ ) zeigt ein schlechteres tod-zensierte Transplantatüberleben als TXA-Biopsien ohne TG ( $cg=0$ ) (log-rank  $p=0,015$ ).

## 7.2. Tabellenverzeichnis

### 7.2.1. Tabelle 1: Patientencharakteristik und Histologie der n=33 Indexbiopsien.<sup>1</sup>

Tabelle 1 zeigt die Auswertung der klinisch-epidemiologischen Daten und der Histologie der 33 Indexbiopsien. Die Kategorien der Schaumzelligen (FC), der hypoelastotischen (HE) und LCA positiven (LCA+) TXA sind trotz der in Abbildung 2 dargestellten Überlappungen aufgelistet. Wegen der Überlappungen sind manche Biopsien zwei- oder dreifach aufgelistet. Die p-Werte werte sind für den dichotomen Vergleich aus den jeweiligen Gruppen der FC, HE, und LCA-TXA und dem Vergleich der dann übriggebliebenen TXAen ohne das jeweilige Merkmal ausgerechnet. Ein Sternchen markiert einen p-Wert von unter 0,05 im dichotomen Vergleich der Gruppen, die exakten P-Werte werden im Ergebnisteil genannt.

|   | FC<br>n=17 | HE<br>n= 24 | LCA+<br>n=22 |
|---|------------|-------------|--------------|
| Sex   |            |             |              |
| Male  | 13 (76%)   | 18 (75%)    | 16 (73%)     |
| female                                      | 4 (24%)    | 6 (25%)     | 6 (27%)      |
| Age at transplantation (Median) in years    | 45         | 52          | 49           |
| Primary disease                             |            |             |              |
| Diabetes                                    | 1 (6%)     | 1 (4%)      | 2 (9%)       |
| Hypertension                                | 2 (12%)    | 3 (13%)     | 4 (18%)      |
| Reflux, obstruction, malformation           | 1 (6%)     | 0 (0%)      | 1 (4%)       |
| FSGS  | 3 (17%)    | 3 (13%)     | 3 (14%)      |
| Glomerulonephritis                          | 3 (17%)    | 5 (21%)     | 4 (20%)      |
| Interstitial nephritis incl. pyelonephritis | 0 (0%)     | 1 (4%)      | 1 (4%)       |
| Cystic kidney diseases                      | 1 (6%)     | 2 (8%)      | 2 (9%)       |
| Analgesic nephropathy                       | 1 (6%)     | 1 (4%)      | 0 (0%)       |
| Nephrocalcinosis                            | 1 (6%)     | 1 (4%)      | 1 (4%)       |

|  |     |       |                            |        |                            |        |
|--|-----|-------|----------------------------|--------|----------------------------|--------|
| hypokalemic nephropathy                                      | 0   | (0%)  | 0                          | (0%)   | 1                          | (4%)   |
| unknown  | 4   | (24%) | 7                          | (29%)  | 3                          | (14%)  |
| Induction with Basiliximab                                   | 8   | (47%) | 13                         | (54%)  | 13                         | (59%)  |
| Primary immunosuppression                                    |     |       |                            |        |                            |        |
| Ciclosporin  | 9   | (53%) | 13                         | (54%)  | 14                         | (64%)  |
| Tacrolimus   | 8   | (47%) | 11                         | (46%)  | 8                          | (36%)  |
| Anti-thymocyte globulin                                      | 3   | (18%) | 6                          | (25%)  | 5                          | (23%)  |
| Interval transplantation to index biopsy<br>(Median) in days | 252 |       | 417*                       |        | 22*                        |        |
| Anti-HLA-DSA positive at biopsy or previously (n)            | 8   | (47%) | 13                         | (54%)  | 9                          | (41%)  |
| Max. previous Banff aTCMR                                    |     |       |                            |        |                            |        |
| No   | 3/8 | (38%) | 4/12                       | (33%)  | 2/10                       | (20%)  |
| Borderline (Cat. 3)  | 3/8 | (38%) | 4/12                       | (33%)  | 4/10                       | (40%)  |
| aTCMR IA or IB   | 1/8 | (13%) | 3/12                       | (25%)  | 1/10                       | (10%)  |
| aTCMR II   | 1/8 | (13%) | 1/12                       | (8%)   | 3/10                       | (30%)  |
| Concurrent Banff acute TCMR diagnosis                        |     |       |                            |        |                            |        |
| No   | 2   | (12%) | 4                          | (17%)  | 2                          | (9%)   |
| Borderline (Cat. 3)  | 9   | (53%) | 14                         | (58%)* | 8                          | (36%)* |
| aTCMR IA or IB   | 0   | (0%)  | 0                          | (0%)   | 0                          | (0%)   |
| aTCMR II   | 6   | (35%) | 6                          | (25%)* | 12                         | (55%)* |
| Banff i≥1 (yes/no)   | 15  | (88%) | 20                         | (83%)  | 19                         | (86%)  |
| Banff t≥1 (yes/no)   | 15  | (88%) | 21                         | (88%)  | 20                         | (91%)  |
| Banff v≥1 (yes/no)   | 6   | (35%) | 6                          | (25%)* | 12                         | (55%)* |
| Banff g≥1 (yes/no)   | 6   | (35%) | 7 (30%) and n=1<br>unknown |        | 6 (29%) and<br>n=1 unknown |        |
| Banff ptc≥1 (yes/no)   | 6   | (35%) | 9                          | (38%)  | 11                         | (50%)  |

|   |     |       |                            |       |      |        |
|---|-----|-------|----------------------------|-------|------|--------|
| Banff MVI $\geq 1$ at least moderate (yes/no) | 4   | (24%) | 5                          | (21%) | 5    | (23%)  |
| Banff C4d $\geq 1$ (yes/no)                   | 2   | (12%) | 3                          | (13%) | 3    | (14%)  |
| Banff ci $\geq 1$ (yes/no)                    | 13  | (76%) | 18                         | (75%) | 13   | (59%)  |
| Banff ct $\geq 1$ (yes/no)                    | 13  | (76%) | 19                         | (79%) | 13   | (59%)* |
| Banff cg $\geq 1a$ (yes/no)                   | 5   | (29%) | 9 (38%) and n=1<br>unknown |       | 4    | (18%)  |
| Maximal previous Banff AMR diagnosis          |     |       |                            |       |      |        |
| Total AMR                                     | 2/8 | (25%) | 4/12                       | (33%) | 2/10 | (20%)  |
| aAMR  | 0   | (0%)  | 1/4                        | (25%) | 1/2  | (50%)  |
| caAMR   | 1/2 | (50%) | 1/4                        | (25%) | 1/2  | (50%)  |
| cAMR  | 1/2 | (50%) | 2/4                        | (50%) | 0    | (0%)   |
| Concurrent Banff AMR diagnosis                |     |       |                            |       |      |        |
| Total AMR                                     | 8   | (47%) | 13                         | (54%) | 9/22 | (41%)  |
| aAMR  | 0   | (0%)  | 0                          | (0%)  | 2/9  | (22%)  |
| caAMR   | 3/8 | (38%) | 5/13                       | (38%) | 2/9  | (22%)  |
| cAMR  | 5/8 | (62%) | 8/13                       | (62%) | 5/9  | (56%)  |

## 7.2.2. Tabelle 2 Kaplan-Meier Schätzungen des Transplantatüberlebens<sup>1</sup>

Tabelle 2 zeigt die Kaplan Meier-Schätzungen des Transplantatüberlebens in Tagen von den Indexbiopsien mit einer oder mehreren der TXA-Subkategorien.

| Time in days from index biopsy | Number at risk | Number of events | Survival | Standard error | Lower 95% CI | Upper 95% CI |
|--------------------------------|----------------|------------------|----------|----------------|--------------|--------------|
| 60                             | 28             | 5                | 0.848    | 0.0624         | 0.735        | 0.980        |
| 90                             | 26             | 2                | 0.788    | 0.0712         | 0.660        | 0.940        |
| 180                            | 21             | 3                | 0.694    | 0.0806         | 0.553        | 0.872        |
| 360                            | 20             | 1                | 0.661    | 0.0833         | 0.517        | 0.847        |

## **8. Vorabveröffentlichungen von Ergebnissen**

Die vorliegende Arbeit ist bereits am 18.06.2025 im Journal of Nephrology erschienen.<sup>1</sup>

Der vorliegende Material- und Methodenteil und der Ergebnisteil wurden teils frei übersetzt und teils neu zusammengefasst. Der Einleitungsteil und Diskussionsteil wurden ergänzend zum Journal Artikel verfasst. Auch die Abbildungen und Tabellen wurde bereits für den Journal Artikel erstellt und sind in diese Arbeit übernommen worden.