

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Klinik und Poliklinik für Kinderheilkunde  
Pädiatrische Hämatologie/Onkologie-  
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. H. Jürgens -

**Die Rolle der MTHFR-C677T-Mutation bei der akuten Abstoßung von  
Nierentransplantaten**

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur

Erlangung des doctor medicinae

der medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

**Sabine Hessing**

aus Ahaus

2003

Gedruckt mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der  
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. H. Jürgens

1. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. U. Nowak-Göttl

2. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. R. M. Schaefer

Tag der mündlichen Prüfung: 02.06.2003

**Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Klinik und Poliklinik für Kinderheilkunde  
Pädiatrische Hämatologie/Onkologie  
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. H. Jürgens -  
Referent: Univ.-Prof. Dr. med. Nowak-Göttl  
Koreferent: Univ.-Prof. Dr. med. R. M. Schaefer**

## **ZUSAMMENFASSUNG**

### **Die Rolle der MTHFR-C677T-Mutation bei der akuten Abstoßung von Nierentransplantaten**

**Sabine Hessing**

Die MTHFR-C677T-Mutation gilt als prothrombotischer Risikofaktor.

Ein Zusammenhang zwischen Thrombophilie und der akuten Abstoßung von Nierentransplantaten wird vermutet, ist bislang jedoch wenig erforscht.

Zwischen dem 01.11.1997 und dem 31.12.2000 wurden 161 Patienten, die in der Chirurgischen Klinik des Universitätsklinikums Münster eine Nierentransplantation erhielten, auf genetisch bedingte prothrombotische Risikofaktoren untersucht.

In einer Nachbeobachtungszeit von 90 Tagen nach der Transplantation wurden alle auftretenden Abstoßungsreaktionen und ihre Ursachen registriert.

Bei der genetischen Untersuchung auf eine MTHFR-C677T-Mutation der 161 Patienten besaßen 71 Patienten das „CC“-, 73 Patienten das „CT“- und 17 Patienten das „TT“-Allel.

Bei 24 Patienten mit dem „CC“-Allel und bei 29 Patienten mit dem „CT“-Allel kam es zu einer Abstoßung.

Bei 12 von 17 Patienten mit „TT“-Allel fand eine Rejektion statt ( $p=0,0218$ ).

Die Studie zeigt, daß die MTHFR-C677T-Mutation signifikant mit einem erhöhten akuten Abstoßungsrisiko verbunden ist.

Tag der mündlichen Prüfung: 02.06.2003

*Diese Arbeit ist meinen Eltern Agnes und Egon Hessing in Liebe  
und Dankbarkeit gewidmet.*

## **INHALTSVERZEICHNIS**

<b>I.</b>	<b>Einleitung</b>	<b>Seite</b>
1.1	Chronische Niereninsuffizienz	1
1.2	klinische Einteilung der chronischen Niereninsuffizienz	2
1.3	klinische Symptome der chronischen Niereninsuffizienz	3
1.4	Therapie der chronischen Niereninsuffizienz	4
1.4.1	Dialyse	5
1.5	Hämostase	7
1.5.1	primäre Hämostase	7
1.5.2	sekundäre Hämostase	8
1.5.2.1	exogenes System	9
1.5.2.2	endogenes System	9
1.5.3	Inhibitoren der Blutgerinnung	11
1.5.3.1	Antithrombin	11
1.5.3.2	Das Protein C-S-System	12
1.5.4	Fibrinolyse	13
1.5.4.1	Aktivatoren der Fibrinolyse	14
1.5.4.2	Inhibitoren der Fibrinolyse	15
1.6	Hereditäre Thrombophilien	15
1.6.1	Protein C-Mangel und APC-Resistenz	17
1.6.2	Protein S-Mangel	18
1.6.3	Antithrombinmangel	18
		<b>Seite</b>

1.6.4	Hereditäre Dysfibrinogenämie	19
1.6.5	Thrombomodulin Defekt/Mangel	20
1.6.6	Plasminogenmangel und Dysplasminogenämie	20
1.6.7	Erhöhung des Histidinreichen Glykoproteins	20
1.6.8	(apo-)Lipoprotein a-Erhöhung	21
1.6.9	Prothrombin G20210A-Mutation	21
1.6.10	MTHFR C677T-Gen	22

## **II. MATERIAL UND METHODEN**

2.1	Aufbau der Studie und Patientengut	24
2.2	Blutentnahme und Material	24
2.3	Genetische Analysen	25
2.3.1	DNA-Analyse der MTHFR-C677T-Mutation	25
2.3.1.1	Material für PCR	25
2.3.1.2	MTHFR-C677T-PCR	27
2.4	Statistik	30

## **III. ERGEBNISSE**

3.1	Altersverteilung Gesamtkollektiv	31
3.2	Verteilung der Grunderkrankungen	32
3.3	Verteilung von Abstoßungsreaktionen und ihren Ursachen	35
3.4	Verteilung der Patienten mit „vascular disease“ in der Anamnese	37
3.5	Verteilung der Abstoßungsreaktionen Zweittransplantierter	39

	<b>Seite</b>
<b>IV. DISKUSSION</b>	41
<b>V. LITERATURVERZEICHNIS</b>	55
<b>VI. DANKSAGUNG</b>	81
<b>VII. CURRICULUM VITAE</b>	82



## **1. EINLEITUNG**

### **1.1 chronische Niereninsuffizienz**

Viele Nierenerkrankungen können unabhängig von ihrer Ursache in einer chronischen Niereninsuffizienz enden.

Unter den Erkrankungen, die zur chronischen Niereninsuffizienz führen, steht an erster Stelle die diabetische Nephropathie (40%), gefolgt von chronischer Glomerulonephritis (>20%), hypertoniebedingten Nierenschäden (>20%), chronischer Pyelonephritis (ca.10%), Analgetikanephropathie (ca.5%), polyzystischer Nephropathie (ca.5%) und anderen Ursachen (Herold et al. 1999). Die Erkrankung findet sich gehäuft im höherem Lebensalter, kann aber in jedem Lebensalter auftreten.

Bezogen auf 1.000.000 Einwohner der BRD gelangen jährlich etwa 40-60 Personen in eine terminale Niereninsuffizienz (Gross et al. 1987).

Die chronische Niereninsuffizienz ist durch eine Vielzahl von Stoffwechselstörungen charakterisiert, die sich schon mit beginnender exkretorischer und endokriner Funktionseinschränkung anbahnen und im weiteren Verlauf schließlich alle Organsysteme in unterschiedlicher Reihenfolge und unterschiedlichem Ausmaß befallen können (Henning 1994). Diesen Zustand nennt man auch „Urämie“.

Es kommt zum Versagen der exkretorischen Nierenfunktion, zu Störungen im Wasser-, Elektrolyt- und Basenhaushalt, zu Störungen der inkretorischen Nierenfunktion und zu toxischen Organschäden durch die retinierten harnpflichtigen Substanzen.

## **1.2 klinische Einteilung der chronischen Niereninsuffizienz**

Klinisch teilt man den Verlauf der Erkrankung in vier Stadien ein, was erhebliche diagnostische, prognostische und therapeutische Bedeutung hat. Zur Unterscheidung werden sowohl die Nierenfunktion, biochemische Parameter, klinische Symptome als auch therapeutische Konsequenzen herangezogen (Gross et al. 1987).

### **Stadium I: Stadium der vollen Kompensation**

Die glomeruläre Filtration ist bereits eingeschränkt, eine Erhöhung der Retentionswerte im Blut besteht jedoch nicht.

Dieses Stadium kann durch die erniedrigte Kreatininclearance erkannt und unter Umständen noch durch eine kausale Therapie behandelt werden.

### **Stadium II: Stadium der kompensierten Retention**

Bei weiterer Einschränkung der glomerulären Filtration kommt es nun zum Anstieg der Retentionsparameter. Das Serumkreatinin liegt in diesem Stadium über 1,2mg/dl, aber noch unter 8mg/dl. Man bezeichnet diesen Zustand auch als Azotämie. Es bestehen klinisch keine Urämiesymptome.

### **Stadium III: Stadium der dekompensierten Retention**

Beim Auftreten typischer Urämiesymptome wie Erbrechen, Anämie, Hypertonie oder Verwirrtheit liegt das Serumkreatinin in der Regel über 8mg/dl. Zumindest vorübergehend ist es in diesem Stadium möglich, durch entsprechende konservative Behandlung den Patienten in das Stadium der kompensierten Retention zurückzuführen.

**Stadium IV: terminale Niereninsuffizienz**

Bei einem Anstieg des Serumkreatinins von über 10mg/dl kommt es trotz Ausschöpfung konservativer Maßnahmen zum Fortschreiten der urämischen Erscheinungen. Eine Behandlung ist nur noch durch regelmäßige Dialysebehandlung oder durch Nierentransplantation möglich.

**1.3 klinische Symptome der chronischen Niereninsuffizienz**

Da die chronische Niereninsuffizienz bis zu einer Abnahme der glomerulären Filtrationsrate auf etwa 50% im allgemeinen keine wesentlichen Beschwerden verursacht, ist ihre Diagnose häufig ein Zufallsbefund. So können eine Proteinurie, Erythrozyturie, Ödeme oder eine Hypertonie erste Hinweise auf eine Niereninsuffizienz sein.

Bei stärkerer Einschränkung der Nierenfunktion kommt es häufig zu Inappetenz, Übelkeit und Erbrechen

Im peripheren Nervensystem kommt es durch Störung des Elektrolythaushalts zu einer verlangsamten Nervenleitgeschwindigkeit, einer Reflexsteigerung und zu einer Polyneuropathie (Graefe und Schmitt 1977). Ebenso finden sich zerebrale Ausfallerscheinungen wie verlangsamte Reaktionen, Wortfindungsstörungen, Gedächtnislücken, Depressionen und sogar Psychosen.

Die Schädigung auf das Herz- und Gefäßsystem führen zu einer abakteriellen Perikarditis, zum Perikarderguß und zur Herzinsuffizienz (Gessler 1977).

Retinierte und in die Haut eingelagerte Farbstoffe, sogenannte Urochrome, sind zusammen mit der durch eine fortschreitende renale Anämie bedingten Blässe für das charakteristisch fahlgraue Gesichts- und Hautkolorit verantwortlich (Henning 1994).

Bei vielen Patienten findet man einen therapieresistenten Pruritus und Ekchymosen.

Der schon im frühen Stadium der Krankheit stattfindende Abfall des ionisierten Serumcalciums führt zunächst zu einer gesteigerten und schließlich zu einer unkontrollierten Funktion der Nebenschilddrüse. Dieser sogenannte Hyperparathyreoidismus ist von entscheidender Bedeutung für die Entwicklung einer renalen Osteopathie. Die Gelenke sind häufig von Arthritis befallen (Schulz 1977).

Bei beiden Geschlechtern ist die Gonadenfunktion gestört. Bei Frauen liegt häufig eine Dysmenorrhoe oder Amenorrhoe vor. Bei Männern sind erniedrigte Plasmatestosteronspiegel nachweisbar, die zur Hodenatrophie und schweren Störungen der Spermio-genese führen können.

Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz haben ein erhöhtes Risiko für thromboembolische Komplikationen wie Myokardinfarkt, ischämischen Hirninfarkt und Shuntthrombosen (Lindner et al. 1974, Bradley et al. 1987, Degoulet et al. 1982).

#### **1.4 Therapie der chronischen Niereninsuffizienz**

Eine kausale Therapie ist mit Ausnahme der Korrektur einer Nierenarteriostenose, einer Harnabflußstörung oder durch eine Nierentransplantation zur Zeit nicht möglich. Die Behandlung ist symptomatisch. Ihr Ziel ist es, reversible Faktoren, die sich ungünstig auf den Krankheitsverlauf auswirken, zu erfassen, zu behandeln und gegebenenfalls zu beseitigen. Zu den häufig zu behandelnden Symptomen zählen die Hypertonie, die Herzinsuffizienz, die Anämie, Hyperlipidämie und Infektionen.

Eine große Bedeutung hat auch die diätetische Behandlung der chronischen Niereninsuffizienz.. Ziel einer solchen Diät ist es, die Akkumulation von harnpflichtigen Metaboliten des Proteinstoffwechsels zu minimieren, ohne damit einen Eiweißmangelzustand zu erzeugen. Ebenso findet eine Bilanzierung des Wasser- und Elektrolythaushalts statt.

#### **1.4.1 Dialyse**

Erreicht die chronische Niereninsuffizienz das Stadium der terminalen Insuffizienz, so muß mit einer Dialysebehandlung begonnen werden. Alle Dialyseverfahren bewirken einen Stoff- und Flüssigkeitstransport aus den Kompartimenten des Organismus über natürliche oder künstliche Membranen in ein extrakorporales Kompartiment (Henning 1994). Die Größe des Stofftransportes pro Oberflächeneinheit der Dialysemembran ist proportional zu den Transportkräften und umgekehrt proportional zum Transportwiderstand. Die treibende Kraft des Stofftransportes resultiert aus dem Konzentrationsunterschied des betreffenden Stoffes zwischen Blut und Elektrolytlösung und ist von der höheren auf die geringere Konzentration gerichtet. Man unterscheidet verschiedene Dialyseverfahren.

Bei der extrakorporalen Hämodialyse wird über einen operativ angelegten arteriovenösen Shunt das Blut des Patienten durch ein Schlauchsystem außerhalb des Organismus einem Dialysator zugeleitet. Harnpflichtige Substanzen diffundieren über eine semipermeable Membran in das Dialysat, und das gereinigte Blut wird dem Patienten wieder zugeführt. Durch Heparinergabe muß bei diesem Vorgang die Gerinnbarkeit des Patientenblutes herabgesetzt werden.

Eine andere Form der Dialyse ist die Hämofiltration. Dieses Verfahren bedient sich der Ultrafiltration. Über einen Gefäßzugang wird mit relativ hohen Drücken von bis zu 500 mmHg ein Filtrat abgepreßt, das retinierte Stoffwechselprodukte in etwa der gleichen Konzentration enthält wie das Plasma. Dem Körper können so innerhalb von drei bis sechs Stunden Ultrafiltratmengen von 20-35 Litern entzogen werden. Der entstehende Flüssigkeits- und Elektrolytverlust wird durch entsprechende Mengen an Substitutionslösung ausgeglichen.

Bei der Peritonealdialyse, die der Patient auch zu Hause selbständig durchführen kann, erfolgt der Stoff- und Flüssigkeitsaustausch über das Peritoneum als biologische Membran. Über einen operativ applizierten Katheter, der mit seiner Spitze im kleinen Becken liegt, werden ein bis zwei Liter sterile, körperwarme Elektrolytlösung instilliert. Durch wiederholtes Wechseln des Dialysats kann ein hohes Konzentrationsgefälle und damit die Diffusion harnpflichtiger Substanzen in das Dialysat aufrechterhalten werden.

Alle Verfahren bieten Vor- und Nachteile, die Auswahl muß individuell auf den Patienten abgestimmt werden. So kann es bei der Hämodialyse und Hämofiltration durch die erforderliche Heparinisierung zu Blutungen kommen. Komplikationen des Shunts wie Infektionen, Aneurysmabildung oder Shuntthrombosen sind nicht selten.

Bei der Peritonealdialyse ist als häufigste Komplikation die Peritonitis zu nennen. Seltener treten Darmperforationen, Harnblasenperforationen oder lokale Blutungen in die Bauchdecken auf. Die Austauschfähigkeit des Peritoneums nimmt mit zunehmender Dialysefrequenz ab und ist als Dialyseverfahren für den einzelnen Patienten in der Regel nur zeitlich begrenzt verfügbar.

Wing et al. untersuchten 1977 Todesursachen bei Klinik- und Heimdialysepatienten in den ersten zwei und nach fünf Jahren der Behandlung. Kardiovaskuläre Erkrankungen waren in beiden Gruppen die häufigste Todesursache, am zweithäufigsten fanden sich Infektionen.

Auffällig war, daß kardiovaskuläre Erkrankungen in der Heimdialysegruppe um 10% häufiger waren als in der Klinikdialysegruppe, wohingegen Infektionen in der Heimdialysegruppe um 5% seltener waren.

## **1.5 Hämostase**

Die möglichst schnelle Deckung eines Gefäßwanddefekts und ein anschließender endgültiger Wundverschluß sind lebenswichtig.

Die schnelle Blutstillung, auch primäre Hämostase genannt, dauert etwa ein bis drei Minuten und verhindert kurzfristig einen Blutverlust.

Die Blutgerinnung, die sekundäre Hämostase, bewirkt einen Wundverschluß innerhalb mehrerer Minuten.

### **1.5.1 primäre Hämostase**

#### 1.Stufe: Posttraumatische Sofort- oder Frühphase

Bei einer Endothelläsion findet zunächst eine reflektorische Vasokonstriktion statt.

Durch die Verletzung der Gefäßintima kommt es dann zur Freisetzung von Kollagen Typ IV und V, welches zur Aktivierung und Adhäsion von Thrombozyten führt (Deetjen und Speckmann 1994). Ebenfalls eine Rolle bei der Thrombozytenadhäsion spielen der von-Willebrand-Faktor, teilweise als Komplex mit dem Gerinnungsfaktor VIII, und Fibronektin.

### 2. Stufe: Thrombozytenaggregation

Durch die Endothelläsion werden ATP und ADP freigesetzt, welche bei tieferen Defekten auch zusammen mit Kollagen Typ I und III eine reversible Thrombozytenaggregation auslösen.

Die kombinierte Einwirkung von Thrombin aus dem Gerinnungssystem, ADP und Kollagen bewirkt dann die irreversible Aggregation, bei der die Thrombozyten unter Membranauflösung miteinander verschmelzen.

Bei diesem Vorgang wird neben weiterem ADP auch Serotonin und die über den Cyclooxygenase-Weg gebildeten zyklischen Endoperoxide PGG<sub>2</sub> und PGH<sub>2</sub> sowie Thromboxan A<sub>2</sub> freigesetzt. Die morphologischen, biochemischen und funktionellen Veränderungen der Thrombozyten bezeichnet man auch als visköse Metamorphose.

### 3. Stufe: weitere Gefäßwandabdichtung

Die aggregierenden Thrombozyten bilden in ihrer Gesamtheit einen Aggregationspfropf, auch „weißer Thrombus“ genannt, bis dieser groß genug ist, um den Gefäßdefekt abzudichten.

## **1.5.2 sekundäre Hämostase**

Der von Thrombozyten gebildete hämostatische Pfropf stellt keinen dauerhaften Verschluss dar. Dieser wird erst durch das plasmatische Gerinnungssystem gebildet, welches aus zahlreichen Gerinnungsfaktoren besteht. Endresultat der Blutgerinnung ist die Bildung von Fibrin, das für die mechanische Festigkeit des Thrombus sorgt.



Die für die Fibrinbildung notwendigen Aktivierungsschritte laufen auf zwei möglichen Wegen ab, die man als exogenes und endogenes System bezeichnet. Beim exogenen System erfolgt die Aktivierung durch Phospholipide aus dem Gewebe, beim endogenen durch plasmatische Faktoren. Gemeinsame „Endstrecke“ beider Systeme ist der sogenannte Prothrombinaktivator, der über die Bildung von Thrombin zur Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin führt.

#### **1.5.2.1 exogenes System**

Beim exogenen System lösen Substanzen aus der verletzen Gefäßwand wie Membranphospholipide („Tissue factor“) und Gewebsthrombokinase eine Aktivierung des im Plasma zirkulierenden Faktors VII aus. Der aktivierte Faktor VII katalysiert die Aktivierung der Faktoren IX und X. Die Gerinnungsfaktoren IX und X aktivieren nun wiederum den Faktor VII und beschleunigen damit deren Gerinnungsablauf (Williams und Norris 1966, Zur et al. 1982)

#### **1.5.2.2 endogenes System**

Am endogenen System ist eine Vielzahl von Gerinnungsfaktoren beteiligt, die in einer Kaskade von Reaktionen zur Fibrinbildung führt.

In diesem System besitzt der Faktor XII (Hagemann-Faktor) eine zentrale Rolle. Nach Adsorption an subendotheliale Kollagenfasern ändert er seine Konformation und wird durch Kallikrein aktiviert (Cochrane et al. 1973). Umgekehrt katalysiert Faktor XIIa die Umwandlung von Präkallikrein zu Kallikrein. Faktor XIIa aktiviert dann an der Gefäßoberfläche Faktor XI (Bouma und Griffin 1977).

Die Aktivierung von Faktor IX durch Faktor XIa erfolgt in Anwesenheit von Calciumionen.

Faktor IXa aktiviert anschließend wieder unter Mithilfe von Calciumionen, Phospholipiden und Faktor VII den Gerinnungsfaktor X (Barton 1967, Hemker und Kahn 1967, Hougie et al. 1967).

Faktor Xa bewirkt eine sehr langsame Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin.

Diese Reaktion wird um ein Vielfaches beschleunigt durch Anwesenheit von Phospholipiden, Calciumionen und Faktor V (Jobin und Esnouf 1967).

Thrombin spaltet aus dem langkettigen Fibrinogenmolekül die beiden Fibrinopeptide A und B ab. Dadurch entstehen zunächst noch lösliche Fibrinmonomere, die sich zu Fibrinpolymeren zusammenlagern und unter Einwirkung von Faktor XIII kovalente Bindungen zwischen benachbarten Fibrinmonomeren bilden und damit ein gefestigtes Fibringerinsel. Dieses ist gegen den fibrinolytischen Abbau durch Plasmin weitgehend geschützt (Bettelheim 1956, Blombäck et al. 1978, McKee et al. 1970).

## Schema der Blutgerinnung

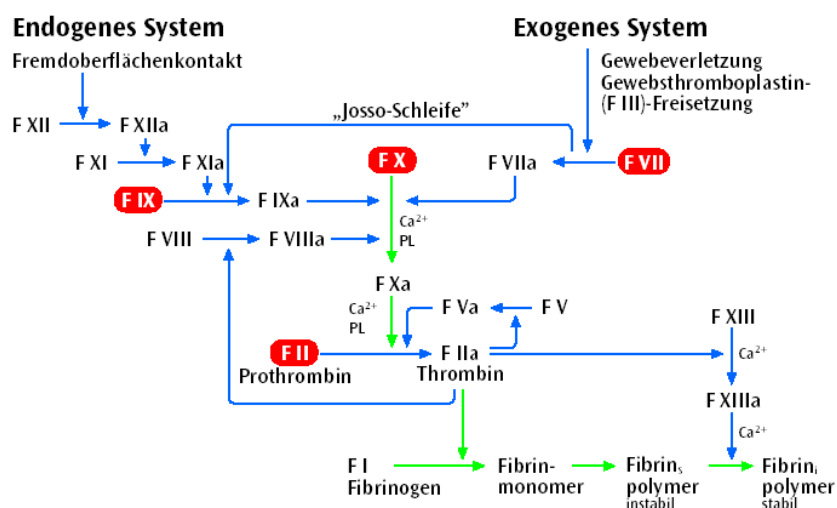


Abbildung 1: Schema der Blutgerinnung - Endogenes und Exogenes System

### **1.5.3 Inhibitoren der Blutgerinnung**

Die Inhibitoren der Blutgerinnung sind von großer Bedeutung. Sie sorgen dafür, daß nach einer Gefäßläsion die Gerinnung lokal limitiert bleibt und es nicht zu einer generalisierten Gerinnungsaktivierung mit unkontrollierter Thrombenbildung kommt.

Die begrenzte Lebensdauer und Labilität der aktivierten Gerinnungsfaktoren führen zu einem schnellen Nachlassen ihrer Wirkung, da sie durch den Blutstrom verdünnt, von der Leber gefiltert und schließlich durch Proteasen abgebaut werden (Stryer 1996).

#### **1.5.3.1 Antithrombin**

Antithrombin, früher auch als Antithrombin III bezeichnet, ist der wichtigste physiologische Inhibitor der Gerinnungsfaktoren.

Es wird von Thrombin gespalten. Dabei zerfällt es in eine leichte und eine schwere Kette, die mit dem aktiven Zentrum des Thrombins über eine Peptidbindung verbunden bleibt. Durch diesen Vorgang verliert Thrombin seine hydrolytische Aktivität und kann keine Fibrinopeptide mehr vom Fibrinogenmolekül abspalten.

Antithrombin bildet zudem mit den aktivierten Faktoren IXa, Xa, Xia, und XIIa sowie Kallikrein und Plasmin Komplexe und führt dadurch zur irreversiblen Blockierung ihrer Aktivität (Damus 1973, Burrowes 1975, Highsmith und Rosenberg 1974).

In Anwesenheit von Heparin hemmt Antithrombin auch den mit einem „Tissue Factor“ gebundenen Faktor VIIa, wobei die Hauptangriffspunkte jedoch Thrombin und Faktor Xa sind (Kienast 1994).

In Abwesenheit von Heparin erfolgt die Inaktivierung der Gerinnungsfaktoren durch Antithrombin erst, nachdem diese ihre physiologische Funktion erfüllt haben. Dadurch wird die Funktion der aktivierten Gerinnungsfaktoren am Ort der Läsion nicht beeinträchtigt, ihre unkontrollierte Ausbreitung im Blutkreislauf aber verhindert.

### **1.5.3.2 Das Protein C-S-System**

Thrombin bindet mit hoher Affinität an den auf der Oberfläche von Endothelzellen sitzenden Rezeptor Thrombomodulin, ein Protein der Plasmamembran. Dadurch wird Protein C aktiviert.

Der Komplex aus Thrombin und Thrombomodulin aktiviert Protein C ungefähr 20.000 mal stärker als ungebundenes Thrombin (Esmon und Owen 1981).

Das aktivierte Protein C (APC) kann in Anwesenheit von Calciumionen und Phospholipiden die Faktoren Va und VIII a inaktivieren (Mammen et al 1960, Marciniak 1972, Stenflo 1976, Seegers et al. 1976, Kisiel 1979, Walker et al. 1979).

Die Inaktivierung von Faktor Va wird um ein Vielfaches potenter, wenn APC auf phospholipidhaltigen Oberflächen von Endothelzellen und Plättchen an seinen Kofaktor, das Vitamin-K-abhängige Protein S, binden kann (Walker 1980, Walker 1981, Comp et al. 1984).

Der inaktivierte Faktor V potenziert wiederum die antikoagulatorische Wirkung von Protein S. Die Folge ist ein Synergismus von Protein S und Faktor V in der Unterstützung der Inaktivierung von Faktor VIIIa durch APC (Shen und Dahlbäck 1994).

Protein S existiert in zwei Formen und wirkt nur als freies Protein S (30-40%) als APC-Kofaktor; in der anderen Form bildet es mit einem C4b-Bindungsprotein einen Komplex und regelt die klassische Komplementkaskade (Dahlbäck 1991).

### **1.5.4 Fibrinolyse**

Das System der Fibrinolyse ist dem Gerinnungssystem im Aufbau und in einigen Teilkomponenten ähnlich.

Über eine Kette von Aktivatoren kommt es zur Bildung von Plasmin. Plasmin, eine Protease, spaltet vom Fibringerüst eines Thrombus sogenannte Fibrinogenspaltprodukte ab und löst ihn so völlig auf. Außerdem inaktiviert Plasmin die Gerinnungsfaktoren V, VIII, IX, XI und XII (Weiß und Jelkmann 1990).

#### **Fibrinogen und seine Reaktionsprodukte bei Gerinnung und Fibrinolyse**

---

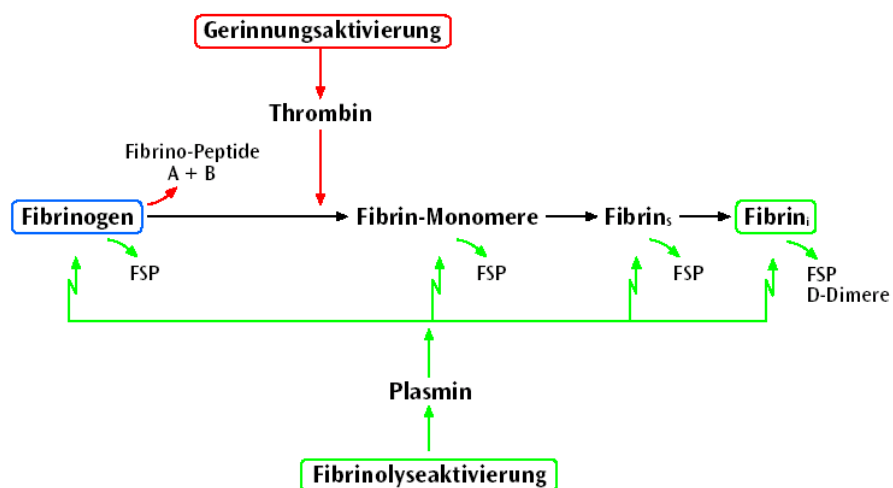


Abbildung 2: Fibrinogen und seine Reaktionsprodukte bei Gerinnung und Fibrinolyse

### **1.5.4.1 Aktivatoren der Fibrinolyse**

Der Gewebsplasminogenaktivator (t-PA) ist der wichtigste Aktivator des Fibrinolytischen Systems. Er wird von Endothelzellen, Leukozyten und Thrombozyten gebildet und liegt in seiner nativen Form als einkettiges „single chain“ (sct-PA) vor.

Unter physiologischen Bedingungen ist t-PA mit Plasminogen- Aktivator- Inhibitor (PAI) zu einem Komplex gebunden. Lediglich 5% des t-PA liegen in der nativen Form ungebunden vor (Kristensen 1984, Sprengers und Kluft 1987).

Durch lokale Freisetzung aus Endothelzellen kann dieser Anteil jedoch um ein Vielfaches gesteigert werden (Bachmann und Kruithoff 1984).

Plasmin, Faktor Xa, und Kallikrein bewirken die Umwandlung des sct-PA in die zweikettige Form (two-chain-tPA). Beide können Plasminogen zu Plasmin aktivieren.

Steigt die lokale Konzentration an Fibrinmonomeren an, so dissoziiert der t-PA/PAI-Komplex und erhöht so die Konzentration an freien t-PA. In Anwesenheit von Fibrin wird somit die Plasminogenaktivierung um das 200-400-fache beschleunigt (Bachmann 1987).

Ein weiterer Faktor des Plasminogens ist die Urokinase (uPA). Diese wird in den Nieren produziert und liegt ebenfalls in zwei Formen, als „single-chain-uPA“ (scu-PA) und als „two-chain-uPA“ (tcu-PA) vor. Die Umwandlung von scu-PA zu tcu-PA erfolgt durch Plasmin in Anwesenheit von Kallikrein. (Gurewich et al 1984, Ichinose et al. 1986).

### **1.5.4.2 Inhibitoren der Fibrinolyse**

Die Inhibitoren der Fibrinolyse werden in Antiaktivatoren und Antiplasminen eingeteilt.

Zu den Antiaktivatoren zählt der Plasminogen-Aktivator-Inhibitor, der wie bereits oben erwähnt, im Plasma mit t-PA gebunden vorliegt. Er wird hauptsächlich in Hepatozyten und Endothelzellen (PAI 1) bzw. in der Plazenta und Makrophagen (PAI 2) gebildet.

Den Antiplasminen werden alpha-2-Antiplasmin, alpha-2-Makroglobulin und C1-Inaktivator zugerechnet.

Alpha-2-Antiplasmin inaktiviert sehr schnell freies Plasmin durch Komplexbildung. Außerdem hemmt es kompetitiv Plasminogen, da es ebenfalls an Fibrin bindet (Müllertz und Clemmensen 1976).

Alpha-2-Makroglobulin neutralisiert Kallikrein und t-PA und bindet überschüssiges Plasmin.

C1-Inaktivator hemmt die Umwandlung von scu-PA zu tcu-PA und neutralisiert auch direkt Plasmin (Bachmann 1987).

## **1.6 Hereditäre Thrombophilien**

Eine Thrombose ist eine lokalisierte Blutgerinnselbildung durch intravitale Blutgerinnung in Venen oder Arterien.

Eine Venenthrombose tritt in der europäischen Bevölkerung mit einer Häufigkeit von 1:1000 auf (Zoller et al. 1999).

Die Ursachen einer Thrombose sind multifaktoriell. Die Risikofaktoren, die zu einer Thrombose prädisponieren, lassen sich in zwei Hauptgruppen einteilen, die genetischen und die nicht-genetischen Risikofaktoren.

Zu den nicht-genetischen Risikofaktoren zählen unter anderem höheres Alter, Gewebsverletzungen, orale Kontrazeption, Schwangerschaft, Adipositas und Mangel an physikalischer Aktivität (Marz et al. 2000).

Als genetisch-bedingte Ursachen, die zu einem erhöhten Thromboserisiko führen, sind heute folgende Defekte bekannt:

- Protein C-Mangel
- Protein S-Mangel
- APC-Resistenz
- Antithrombin-Defizienz.

Diese Defekte bedingen eine Neigung zu Thrombosen infolge von Hyperkoagulabilität, was man auch als Thrombophilie bezeichnet.

Die angeborene Thrombophilie liegt in der Bevölkerung mit einer Häufigkeit von 1:2500 – 1:5000 vor (Mannucci et al. 1987). Da der Körper erst auf verschiedene äußere Einflüsse vermehrt mit Thrombosen reagiert, verlaufen sie häufig inapparent. Auffällig werden Patienten mit Thrombophilie meist durch atypische Thrombosen. Zu den sogenannten atypischen Thrombosen zählen häufig rezidivierende Thrombosen, eine familiäre Häufung, Thrombosen im Kindesalter, Thrombosen ohne erkennbare Auslöser und Thrombosen mit disseminierten, wandernden oder ungewöhnlichen Lokalisationen.

Weitere mögliche, bzw. noch in der Diskussion stehende Ursachen einer Thrombophilie sind:

- kongenitale Dysfibrinogenämie
- Thrombomodulin Mangel/Defekte
- Plasminogen Mangel/Defekte
- Erhöhung des histidinreichen Glykoproteins
- Lipoprotein a – Erhöhung
- Prothrombin G20210A-Mutation
- Hyperhomocysteinämie, MTHFR



### **1.6.1 Protein C-Mangel und APC-Resistenz**

Der Protein C-Mangel wird in zwei Typen unterteilt.

Typ I ist der quantitative Proteinmangel bei normaler Funktion.

Beim Typ II findet sich ein funktioneller Defekt bei normaler Konzentration des Proteins.

Eine dritte Form der Protein C-Dysfunktion ist die Resistenz des Faktor V gegenüber aktiviertem Protein C. Für diese sogenannte APC-Resistenz ist im Gegensatz zu den sehr heterogenen Defekten im Protein C/S Gen nur eine autosomal dominant vererbte Mutation bekannt. Es handelt sich hierbei um die Punktmutation Arg 506 zu Gln, auch als „Faktor V Leiden“ bezeichnet. (Amer et al. 1990, Dahlbäck et al. 1991). Das gemeinsame Auftreten von Faktor V Leiden und einem Protein C-Mangel erhöht signifikant das Risiko für eine klinische Symptomatik (Reitsma et al. 1995).

Klinisch findet sich bei Patienten mit Protein C-Mangel ein gehäuftes Auftreten von venösen Thrombembolien, oberflächlichen Thrombosen und vereinzelt arteriellen Verschlüssen (Demers et al. 1992, De Stefano et al. 1994). Die Ausprägung der klinischen Symptomatik hängt dabei auch vom Erbgang ab. Man unterscheidet Familien mit symptomatischen Heterozygoten von Familien mit asymptomatischen Heterozygoten in Verbindung mit homozygoten Individuen. Homozygote entwickeln relativ frühzeitig massive thrombotische Komplikationen. So kommt in dieser Gruppe eine schwere Purpura fulminans schon in der Neonatalperiode vor. In der Gruppe der symptomatischen Heterozygoten überwiegen venöse Thrombosen und pulmonale Embolien im jungen Erwachsenenalter (Nowak-Göttl et al. 1996).

### **1.6.2 Protein S-Mangel**

Analog zum Protein C-Mangel wird der Protein S-Mangel in Typ I, als Ausdruck eines quantitativen Mangels, und Typ II, der einen funktionellen Defekt darstellt, unterteilt.

Die klinische Symptomatik entspricht weitgehend dem Protein C-Mangel.

Ein erworbener Protein S-Mangel ist in der Regel gering ausgeprägt und findet sich bei Verbrauchskoagulopathien und Lebererkrankungen. Gelegentlich kann es im Rahmen einer Sepsis aber auch zu einem schweren Protein-S-Mangel mit Purpura fulminans kommen.

### **1.6.3 Antithrombinmangel**

Verschiedene Mutationen sind als Auslöser eines Antithrombinmangels möglich (Bock et al. 1982, Chandra et al. 1983). Auch hier unterscheidet man einen Typ I mit quantitativem und einen Typ II mit funktionellem Antithrombinmangel.

Typ II gliedert sich weiter in einen Typ mit Störungen des reaktiven Zentrums (Typ II RS), mit Störungen der Heparin Binding Site (Typ II HBS) oder mit multiplen funktionellen Defekten (Typ II PE) (Finazzi et al. 1987, Lane et al. 1993).

Klinisch manifestiert sich der Antithrombinmangel sehr unterschiedlich, wobei der Typ II mit einem insgesamt niedrigeren Thromboserisiko einhergeht. Im Vergleich zum Protein C- oder S-Mangel ist das Risiko für Thrombosen beim kongenitalen Antithrombinmangel höher (Thaler et al. 1981). Schon eine Verminderung der Normwerte auf 60-70% reicht für das Auftreten venöser Thrombembolien im jüngeren Lebensalter aus.

Die Wahrscheinlichkeit für ein thrombotisches Ereignis innerhalb der ersten 25 Lebensjahre liegt bei 50%, bis zum 50. Lebensjahr haben 80% der Patienten eine Thrombose durchgemacht (Hirsh et al. 1989).

Oberflächliche Thrombophlebitiden finden sich im Vergleich zum Protein C/S-Mangel eher selten. Bei 5% der symptomatischen Patienten kommen allerdings atypische Lokalisationen wie Mesenterialvenen- oder Hirnvenenthrombosen vor (Demers et al. 1992).

Ein erworbener Antithrombinmangel kann bedingt durch massive Blutungen, durch Proteinurie beim nephrotischen Syndrom oder Verbrauchskoagulopathie auftreten. Auch eine verminderte Bildung durch Leberversagen oder die antagonistische Wirkung der Leukozytenelastase kann zu einem Antithrombinmangel führen.

#### **1.6.4 Hereditäre Dysfibrinogenämie**

Bei der hereditären Dysfibrinogenämie kommt es zur Bildung eines funktionell gestörten Fibrinogens. Dadurch ist die Plasmathrombinzeit verlängert.

Die Erkrankung wird autosomal-dominant vererbt und bleibt klinisch oft inapparent.

Die Symptomatik erstreckt sich von vereinzelt Blutungsneigungen bis hin zu venösen Thrombosen (McDonagh und Carell 1987).

### **1.6.5 Thrombomodulin Defekt/Mangel**

Thrombomodulin wirkt als Rezeptor für Thrombin und als Ko-Faktor bei der Aktivierung von Protein C.

Es ist anzunehmen, daß ein Mangel bzw. Defekt mit einem erhöhten Risiko für thrombotische Komplikationen einhergeht (Ohlin und Marlar 1995). Die klinische Relevanz von einigen bisher bekannten Mutationen des Thrombomodulin-Gens ist zur Zeit noch Gegenstand von Studien.

### **1.6.6 Plasminogenmangel und Dysplasminogenämie**

Typ I, der Plasminogenmangel, kennzeichnet den Mangel an Plasminogen bei gleichzeitig reduzierter Aktivität. Er wird in mehreren Studien für ein erhöhtes Thromboserisiko verantwortlich gemacht (Santori et al.1994, Gladson et al.1988, Tait et al.1991).

Beim Typ II, der Dysplasminogenämie, findet sich eine Reduktion der Aktivität bei normaler Konzentration (Dolan et al.1988).

Typ II kommt häufig in der japanischen Bevölkerung vor, scheint aber nicht zu einer verstärkten Thromboseneigung zu führen.

### **1.6.7 Erhöhung des Histidinreichen Glykoproteins**

Das histidinreiche Glykoprotein (HRG) liegt im Plasma als 1:1 Komplex mit Plasminogen vor. Es ist ein nicht-enzymatisches Protein, welches an die „Lysin binding site“ des Plasminogens gebunden ist.

Dadurch wird die Konzentration an freiem Plasmin um ca. 50% reduziert (Lijnen et al. 1980). Die Komplexbildung mit HRG stört die Interaktion des Plasminogens mit Fibrin. In einigen Fällen konnte eine Korrelation zwischen HRG-Erhöpfung und Thrombophilie gezeigt werden (Engesser et al. 1987). Aber auch ein Mangel an HRG wurde im Zusammenhang mit thrombophilen Diathesen beobachtet (Souto et al. 1995).

#### **1.6.8 (apo-)Lipoprotein a-Erhöpfung**

Ein Apoprotein des Lipoprotein a (apo Lp (a) ) hemmt kompetitiv Plasminogen. Außerdem steigert Lp (a) die Expression des Plasminogen-Aktivator-Inhibitors (PAI 1). Durch hohe Lp (a)-Konzentrationen wird die lokale Thrombolyse im Bereich des Gefäßendothels gehemmt und die Thrombosebildung begünstigt. Bei Untersuchungen der genetischen Risikofaktoren für kindliche Thrombophilien wiesen Nowak-Göttl et al. die besondere Bedeutung von Lp (a) in diesem Zusammenhang nach (Nowak-Göttl et al. 1997).

#### **1.6.9 Prothrombin G20210A-Mutation**

Eine genetisch bedingte Mutation auf dem Prothrombin-Gen wird als Ursache für hereditäre Thrombophilien vermutet. Poort et al. identifizierten 1996 eine Punktmutation (G/A) in Position 20210, dem letzten Nukleotid der 3'-nicht kodierenden Sequenz des Prothrombingens. Durch das Vorliegen eines weiteren prothrombotischen Risikofaktors wird das Thromboserisiko nochmals deutlich erhöht (Junker und Nowak-Göttl 1998).

### **1.6.10 MTHFR C677T-Gen**

Homocystein ist eine Aminosäure, die im Organismus aus der essentiellen Aminosäure Methionin entsteht und nicht mit der Nahrung zugeführt wird. Bei der homozygoten Homocystinurie finden sich sehr hohe Plasmaspiegel von Homocystein. Die Erkrankung tritt mit einer Prävalenz von 1:80.000 – 200.000 auf und ist bedingt durch einen Defekt des Enzyms Cystothionin- $\beta$ -Synthase. Homocystinurie-Patienten haben ein stark erhöhtes Risiko für frühe Arteriosklerose und juvenile arterielle und venöse Thrombosen (Mudd und Levy 1983).

Es wird vermutet, daß die schädigende Wirkung des Homocysteins an die Existenz der endständigen Thiolgruppe im Molekül gebunden ist. Bei der Reaktion von Thiolen mit bestimmten Metallionen können freie Thiol- oder Sauerstoffradikale entstehen. Diese reaktiven Substanzen fördern die chemische Modifizierung des LDL-Cholesterins und erhöhen direkt den oxidativen Streß in Blutgefäßen (Heinecke et al. 1987, Olszewski et al. 1993).

Weiterhin erhöht Homocystein die Bindung von Lipoprotein (a) an Fibrin, was eine verminderte Fibrinolyse zur Folge haben kann (Harpel et al. 1992).

Auch bei Patienten ohne Homocystinurie, die frühe arterielle oder venöse Thrombosen entwickelten, fanden sich in Studien erhöhte Homocysteinspiegel (Falcon et al. 1994, Fermo et al. 1995). Ursachen entdeckte man im Methionin-Stoffwechsel.

Methylentetrahydrofolatreduktase (MTHFR) ist ein Enzym, das die Umwandlung von 5,10-Methylentetrahydrofolsäure in 5-Methyltetrahydrofolsäure katalysiert. Die Übertragung der Methylgruppe der 5-Methyltetrahydrofolsäure dient der Bildung von Methionin aus Homocystein (Cooper 1983).

Kang et al. beschrieb 1988 eine thermolabile Variante der MTHFR. Dieser Variante liegt eine C/T-Mutation im Nukleotid 677 in dem für die MTHFR codierenden Gen zugrunde (Frosst et al. 1995).

Eine MTHFR-C677T-Mutation erhöht das Risiko für arterielle und venöse Thromben durch Erhöhung des Homocysteinspiegels (de Franchis et al. 1996, Arruda et al. 1997, Tosetto et al. 1997, Margaglione 1998).

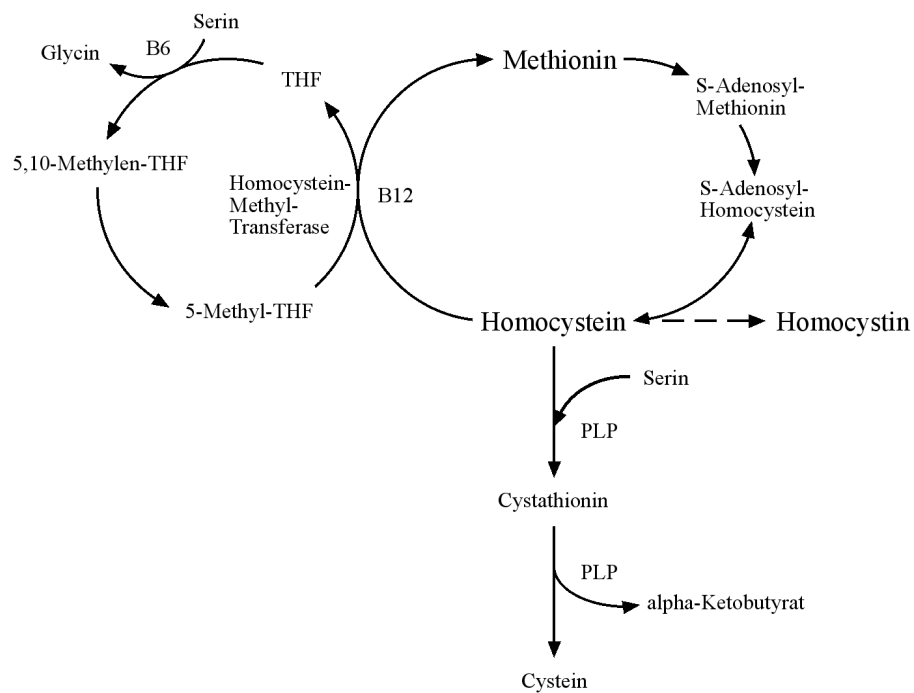


Abbildung 3: Homocystein-Stoffwechsel

## **2. METHODEN**

### **2.1 Aufbau der Studie und Patientengut**

Zwischen dem 01.11.1997 und dem 31.12.2000 wurden 161 Patienten, die in der Chirurgischen Klinik der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster nieren-transplantiert wurden, auf genetisch bedingte prothrombotische Risikofaktoren untersucht.

Alle Patienten erhielten eine adäquate Immunsuppression, die aus einer Dreier-Kombination von Cyclosporin A, Mofetilmycophenolat und Prednisolon im ersten Jahr bestand. Zweittransplantierte nahmen Tacrolimus statt Cyclosporin A ein. In einer Nachbeobachtungszeit von neunzig Tagen wurden alle auftretenden Abstoßungsreaktionen und ihre Ursachen registriert.

### **2.2 Blutentnahme und Material**

Die Blutproben wurden durch peripher venöse Punktion gewonnen und in EDTA-Röhrchen (Sarstedt®) asserviert.

Zur Zellseparation wurden die Röhrchen bei 3000 g für 15 Minuten bei Raumtemperatur zentrifugiert. Die dabei entstehende mittlere leukozytenreiche Schicht (buffy coat) wurde bei  $-70^{\circ}\text{C}$  für die DNA -Extraktion aufbewahrt.

Die Blutentnahmen fanden mit Einverständnis der Patienten, bei minderjährigen Patienten mit Einverständnis der Erziehungsberechtigten statt. Die Patienten wurden vor der Blutentnahme ausführlich über die Ziele der Studie informiert.



Im allgemeinen konnten die Blutproben im Rahmen der unmittelbar vor der Transplantation notwendigen Blutentnahmen gewonnen werden, so daß keine zusätzlichen Punktionen notwendig waren.

### **2.3 Genetische Analysen**

Für die genetische Untersuchung der MTHFR-C677T-Mutation wurde zunächst die DNA des Probenmaterials mit Hilfe eines kommerziellen Standardverfahrens (QIAmp Blood Kit®, QIAGEN GmbH Hilden, Deutschland) extrahiert.

#### **2.3.1 DNA-Analyse der MTHFR-C677T-Mutation**

Da eine Mutation im MTHFR-Gen nicht zwangsläufig mit einem erhöhten Plasma-Homocysteinspiegel verbunden ist, muß der Defekt mit Hilfe von DNA-Analysen nachgewiesen werden.

Zur schnellen Erkennung diente die Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Die Erkennung der MTHFR-C677T-Mutation durch PCR wurde 1995 von Frosst et al. entwickelt.

### **2.3.1.1 Material für PCR**

- 1. Mastermix:** 5,0µl PCR-Puffer (Eppendorf®)  
5,0µl dNTP (Eppendorf®; 4x25µl dATP, dCTP, dGTP, dTTP)  
1,0µl Primer MTHFR IN (100ng/µl; GIBCO®)  
1,0µl Primer MTHFR EX (100ng/µl; GIBCO®)  
0,25µl Master Taq Kit (Eppendorf®)
- 2. Cycler-Bedingungen:** 95°C / 5min.  
  
95°C / 30sec., 58°C / 30sec., 72°C / 60sec.  
→ 32 Zyklen  
  
72°C / 4min.
- 3. Verdau:** 1,0µl Puffer NE2 (Eppendorf®)  
0,3µl Enzym HINF 1 (Eppendorf®)  
3,7µl Aqua dest.
- 4. nach dem Verdau:** 2,0 µl Beladungspuffer (1Kb DNA Ladder, GIBCO®)
- 5. Gel:** 4%iges Gel: 8g Agarose Nusieve (Biozym®)  
16µl Ethidiumbromid  
4ml 50fach-konzentrierter TAE-Puffer (0,04M Trisacetat, 57,1ml Eisessig, 0,01M EDTA ad 1000ml Aqua dest.)

### **2.3.1.2 MTHFR-C677T-PCR**

Die PCR erlaubt die in vitro-Vermehrung eines spezifischen DNA-Abschnitts aus einem Überschuß damit gemischter anderer Nukleinsäuren heraus.

Die mutierte Allele des MTHFR-Gens sieht folgendermaßen aus:

***5'-AAGGAGAAGGTGTCTGCGGGCGT-3'***

Um einen definierten Abschnitt, in dem diese mutierte Allele enthalten ist, zu vermehren, werden Oligonukleotid-Primer zugesetzt, die komplementär zu den flankierenden Bereichen der ausgesuchten DNA-Sequenz sind.

Das erste Oligonukleotid, der „upstream Primer“ MTHFR IN, ist komplementär zu einer Sequenz in der Nähe des 3'-Endes:

***5'-AGG ACG GTG CGG TGA GAG TG- 3'***

Das zweite Oligonukleotid, der „downstream primer“ MTHFR EX, ist komplementär zu einer Sequenz in der Nähe des 5'-Endes:

***5'-TGA AGG AGA AGG TGT CTG CGG GA-3'***

Das entsprechende PCR-Produkt hat eine Länge von 198bp.

Durch das Restriktionsenzym HINF wird die DNA an folgender Stelle spezifisch gespalten:

***5'-... G↓ANTC...-3'***  
***3'-... CTNA↑G...-5'***

Dadurch entstehen bei Homozygoten mit Mutation (TT) Fragmente von 175bp und 23bp.

Bei Homozygoten ohne Mutation (CC) hat das Restriktionsenzym keine Angriffsstelle, und das Fragment von 198 bp bleibt in seiner Länge erhalten.

Bei Heterozygoten (CT) entstehen Fragmente von 175bp und 23bp, ebenso bleiben Fragmente mit 198bp erhalten.

In der Gelelektrophorese ergibt sich für die verschiedenen Allele dann folgendes Bild:

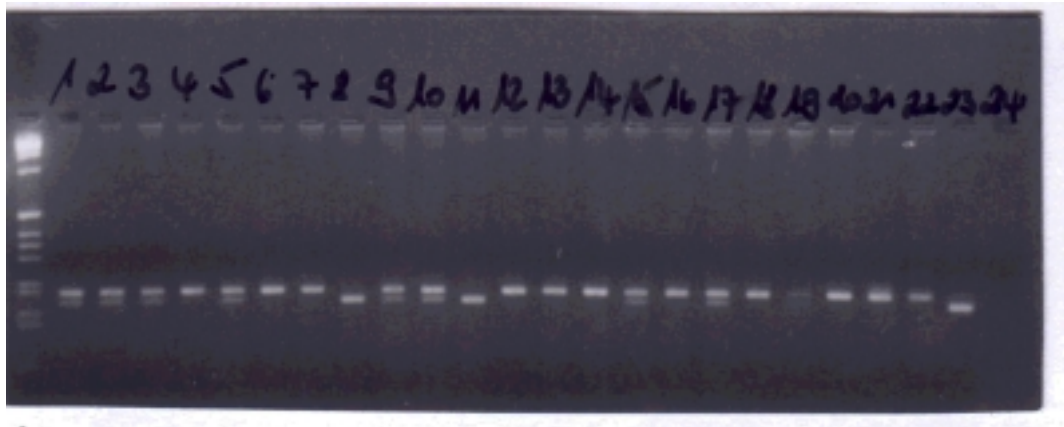


Abbildung 4: Gelelektrophorese nach MTHFR-PCR

Die Allele der Patienten lassen sich wie folgt bestimmen:

	CC	TT	CT
198bp	■		■
175bp		■	■

Abbildung 5: Identifikation der MTHFR-C677T-Mutation

## **2.4 Statistik**

Die statistische Auswertung erfolgte mit StatView 5® (SAS Institute Inc.).

Fisher's exakter Test wurde durchgeführt. P-Werte  $< 0,05$  galten als signifikant.

### 3. ERGEBNISSE

#### 3.1 Altersverteilung Gesamtkollektiv

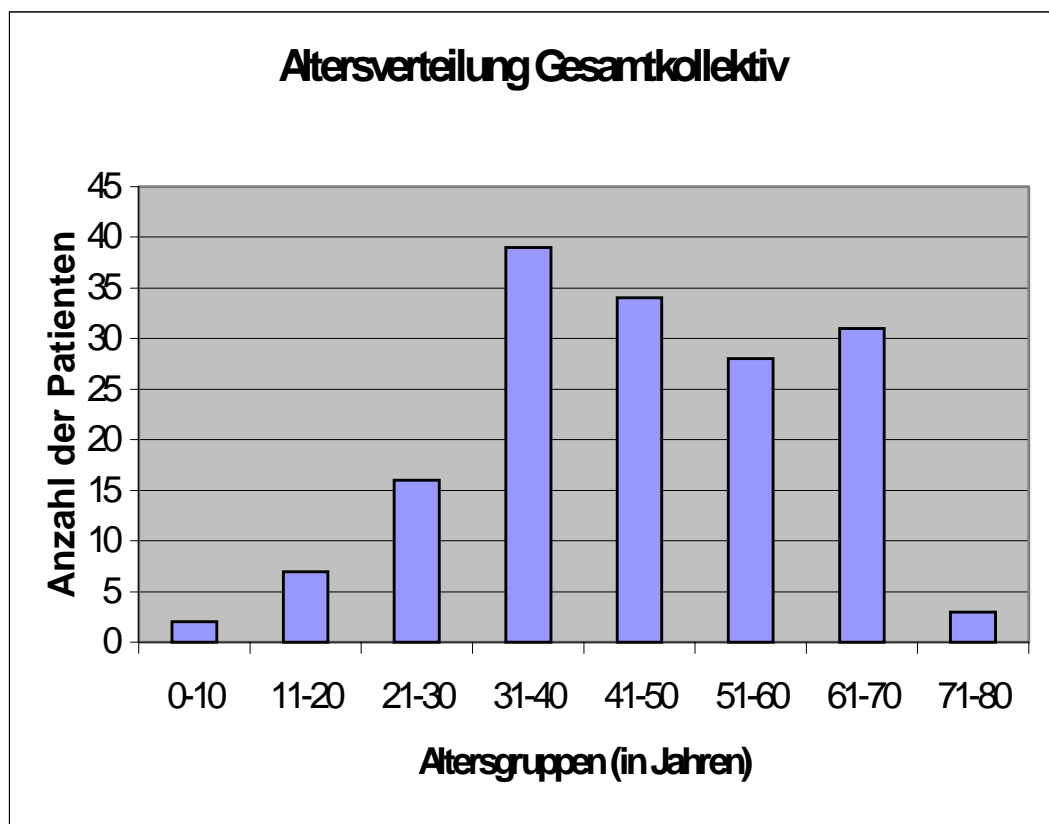


Abbildung 6: Altersverteilung der Patienten

**3.2 Verteilung der Grunderkrankungen**

	<b>CC</b>	<b>CT</b>	<b>TT</b>
<b>Gesamtzahl</b>	71 (44,1%)	73 (45,3%)	17 (10,6%)
<b>Geschlecht m:w</b>	49:22	43:30	13:4
<b>Altersmedian in Jahren</b>	45,4	47,1	47,6
<b>unbek. Grunderkrankung</b>	7 (9,9%)	4 (5,5%)	5 (29,4%)
<b>Glomerulonephritis</b>	22 (31,0%)	27 (37,0%)	7 (41,2%)
<b>Zystennieren</b>	9 (12,7%)	10 (13,7%)	
<b>Pyelonephritis</b>	6 (8,5%)	5 (6,9%)	2 (11,8%)
<b>Diabetes mellitus</b>	5 (7,0%)	7 (9,6%)	1 (5,9%)
<b>benigne Nephrosklerose</b>	3 (4,2%)	7 (9,6%)	1 (5,9%)
<b>chron. interstitielle Nephritis</b>	3 (4,2%)	6 (8,2%)	
<b>Refluxnephropathie</b>	5 (7,0%)	2 (2,7%)	1 (5,9%)
<b>rheum. Grunderkrankung</b>	3 (4,2%)	2 (2,7%)	



Fortsetzung von Tabelle 1:

	<b>CC</b>	<b>CT</b>	<b>TT</b>
<b>HUS</b>	3 (4,2%)		
<b>Phenacetinniere</b>	1 (1,4%)	1 (1,4%)	
<b>Schockniere</b>		1 (1,4%)	
<b>Alport-Syndrom</b>	4 (5,6%)	1 (1,4%)	

*Tabelle 1: Verteilung der Grunderkrankungen*

Im Rahmen dieser Studie wurden 161 nierentransplantierte Patienten auf das Vorliegen der MTHFR-C677T-Mutation untersucht. Davon waren 105 männlich und 56 weiblich.

Der Altersmedian betrug 46,3 Jahre.

Bei 71 Patienten fand sich keine Mutation im MTHFR-Gen. Dies entspricht dem Genotyp „CC“. Von diesen Patienten waren 49 männlich und 22 weiblich. Der Altersmedian betrug 45,4 Jahre.

Als Grunderkrankung, die zur chronischen Niereninsuffizienz geführt hatte, fand sich bei 22 Patienten (31,0%) eine chronische Glomerulonephritis, bei neun Patienten (12,7%) familiäre Zystennieren, bei sechs Patienten (8,5%) eine chronische Pyelonephritis, bei fünf Patienten (7,0%) eine Refluxnephropathie, bei fünf Patienten (7,0%) ein Diabetes mellitus, bei vier Patienten (5,6%) ein Alport-Syndrom,

bei drei Patienten (4,2%) eine rheumatische Grunderkrankung, bei drei Patienten (4,2%) ein Hämolytisch-Urämisches-Syndrom, bei drei Patienten (4,2%) eine chronische interstitielle Nephritis, bei drei Patienten (4,2%) eine benigne Nephrosklerose und bei einem Patienten (1,4%) eine Phenacetinniere. Bei sieben Patienten (9,9%) war die Grunderkrankung unbekannt.

Bei 73 Patienten fand sich eine Heterozygotie im MTHFR-Gen. Dies entspricht dem Genotyp „CT“. Von diesen Patienten waren 43 männlich und 30 weiblich. Der Altersmedian betrug 47,1 Jahre.

Als Grunderkrankung fand sich bei 27 Patienten (37,0%) eine chronische Glomerulonephritis, bei zehn Patienten (13,7%) familiäre Zystennieren, bei sieben Patienten (9,6%) eine benigne Nephrosklerose, bei sieben Patienten (9,6%) ein Diabetes mellitus, bei sechs Patienten (8,2%) eine chronische interstitielle Nephritis, bei fünf Patienten (6,9%) eine Pyelonephritis, bei zwei Patienten (2,7%) eine rheumatische Erkrankung, bei zwei Patienten eine Refluxnephropathie (2,7%), bei einem Patienten (1,4%) eine Phenacetinniere, bei einem Patienten (1,4%) eine Schockniere und bei einem Patienten (1,4%) ein Alport-Syndrom. Bei vier Patienten (5,5%) war die Grunderkrankung unbekannt.

Bei 17 Patienten war die MTHFR-T677T-Mutation nachweisbar. Dies entspricht dem Genotyp „TT“. Von diesen Patienten waren 13 männlich und vier weiblich, der Altersmedian betrug 47,6 Jahre.

Sieben der Patienten (41,2,9%) litten an einer Glomerulonephritis, zwei Patienten (11,8%) an einer Pyelonephritis, ein Patient (5,9%) an einem Diabetes mellitus, ein Patient (5,9%) an benigner Nephrosklerose und ein Patient (5,9%) an Refluxnephropathie. Bei fünf Patienten (29,4%) war die Grunderkrankung unbekannt.

### **3.3 Verteilung von Abstoßungsreaktionen und ihren Ursachen**

	<b>CC</b>	<b>CT</b>	<b>TT</b>
<b>Abstoßung</b>	24 (33,8%)	29 (39,7%)	12 (70,6%)
<i>davon:</i>			
<b>keine Punktion</b>	6 (25,0%)	9 (31,0%)	4 (33,3%)
<b>tubulär</b>	1 (4,2%)	2 (6,9%)	
<b>interstitiell</b>	11 (45,8%)	5 (17,2%)	3 (25,0%)
<b>tubulär-interstitiell</b>	2 (8,3%)	3 (10,3%)	
<b>vaskulär</b>	4 (16,7%)	10 (34,5%)	5 (41,7%)
<b>CMV-getriggert</b>	2 (8,3%)		

*Tabelle 2: Verteilung von Abstoßungsreaktionen und ihren Ursachen*

Im Rahmen der Studie wurden alle aufgetretenen Abstoßungen innerhalb der ersten sechs Monate nach der Transplantation und deren Ursachen registriert.

Insgesamt hatten 65 Patienten (40,4%) eine Rejektion.

Von den Patienten mit dem Genotyp „CC“ hatten 24 (33,8%) eine Abstoßung. Bei elf Patienten (45,8%) fand sich eine interstitielle, bei vier Patienten (16,7%) eine vaskuläre, bei zwei Patienten (8,3%) eine tubulär-interstitielle, bei zwei Patienten (8,3%) eine CMV-getriggerte und bei einem Patienten (4,2%) eine tubuläre Rejektion. Bei sechs Patienten (25,0%) wurde keine Nierenpunktion durchgeführt, so daß die Ursache der Abstoßung nicht zu diagnostizieren war.

Von den Patienten mit dem Genotyp „CT“ hatten 29 (39,7%) eine Abstoßung. Bei zehn Patienten (35,7%) fand sich eine vaskuläre, bei fünf Patienten (17,2%) eine interstitielle, bei drei Patienten (10,3%) eine tubulär-interstitielle und bei zwei Patienten (6,9%) eine tubuläre Rejektion.

Bei neun Patienten (31,0%) wurde keine Punktion durchgeführt.

Von den Patienten mit der MTHFR-C677T-Mutation hatten zwölf (70,6%) eine Abstoßung ( $p=0,0218$ ). Bei fünf Patienten (41,7%) fand sich eine vaskuläre und bei drei Patienten (25,0%) eine interstitielle Rejektion. Bei vier Patienten (33,3%) wurde keine Punktion durchgeführt.

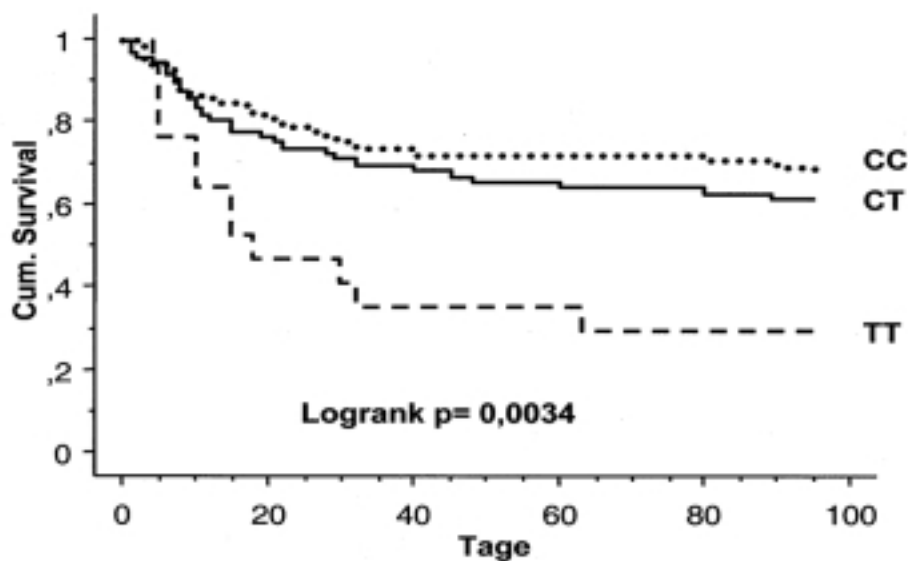


Diagramm 1: Abstoßungsreaktionen der Allele im zeitlichen Verlauf

Das Diagramm 1 zeigt die Abstoßungsreaktionen der jeweiligen Genotypen im Verlauf. Für das TT-Allel ergibt sich ein Logrank von  $p=0,0034$ .

### **3.4 Verteilung der Patienten mit „vascular disease“ in der Anamnese**

	<b>CC</b>	<b>davon Rejektion</b>	<b>CT</b>	<b>davon Rejektion</b>	<b>TT</b>	<b>davon Rejektion</b>
<b>„vascular disease“</b>	23 (32,4%)	7 (32,9%)	26 (35,6%)	12 (46,2%)	7 (41,2%)	6 (85,7%)
<i>davon:</i>						
<b>Nieren- arterien- thromb.</b>	1 (4,3%)	1 (100%)	4 (15,4%)	3 (75%)		
<b>Insult</b>	1 (4,3%)	0 (0%)				
<b>KHK</b>	18 (78,3%)	4 (22,2%)	14 (53,8%)	5 (35,7%)	4 (57,1%)	3 (75%)
<b>PAVK</b>			3 (11,5%)	1 (33,3%)		
<b>venöse Throm- bose</b>	2 (8,6%)	1 (50%)	4 (15,4%)	2 (50%)	2 (28,6%)	2 (100%)
<b>ACI- Stenose</b>	1 (4,3%)	1 (100%)	1 (3,8%)	1 (100%)		
<b>TIA</b>					1 (14,3%)	1 (100%)

*Tabelle 3: Verteilung der Patienten mit „vascular disease“ in Anamnese*

Im Rahmen der Studie wurden die Patienten auf vaskuläre Ereignisse („vascular diseases“) wie Thrombosen, Insulte, koronare Herzkrankheit (KHK), periphere arterielle Verschlusskrankheit (PAVK), Stenosen der Arteria carotis interna oder transitorisch ischämische Attacken (TIA) in ihrer Anamnese untersucht.

Bei den Patienten mit dem Genotyp „CC“ fanden sich 23 Patienten (32,6%) mit einer „vascular disease“.

Davon hatten 18 Patienten (78,3%) eine KHK, zwei Patienten (8,6%) eine venöse Thrombose, ein Patient (4,3%) eine Nierenarterienthrombose, ein Patient (4,3%) einen Insult und ein Patient (4,3%) eine ACI-Stenose in ihrer Anamnese.

Von den Patienten mit KHK hatten vier (22,2%) eine Rejektion. Beide Patienten mit Nierenarterienthrombose bzw. ACI-Stenose hatten eine Abstoßung (100%).

Von den beiden Patienten mit einer venösen Thrombose in der Anamnese erlitt einer (50%) eine Abstoßung. Der Patient mit Insult blieb ohne Rejektion.

Insgesamt hatten von den 30 Patienten mit Genotyp „CC“ und einer „vascular disease“ in der Anamnese 7 Patienten (32,9%) eine Abstoßung.

Bei den Patienten mit dem Genotyp „CT“ fanden sich 26 Patienten (35,6%) mit einer „vascular disease“.

Davon hatten 14 Patienten (53,8%) eine KHK, vier Patienten (15,4%) eine Nierenarterienthrombose, vier Patienten (15,4%) eine venöse Thrombose, drei Patienten (11,5%) eine PAVK und ein Patient (3,8%) eine ACI-Stenose in der Anamnese.

Von den Patienten mit KHK fand sich bei fünf Patienten (35,7%) und von den Patienten mit Nierenarterienthrombose bei drei Patienten (75%) eine Abstoßung. Bei den Patienten mit PAVK erlitt einer (33,3%) eine Abstoßung. Bei den Patienten mit venöser Thrombose in der Anamnese kam es in zwei Fällen (50%) zur Rejektion. Der Patient mit ACI Stenose hatte eine Abstoßung (100%).

Insgesamt hatten von den Patienten mit Genotyp „CT“ und einer „vascular disease“ in der Anamnese zwölf Patienten (46,2%) eine Abstoßung.

Von den Patienten mit der MTHFR-C677T-Mutation hatten sieben (41,2%) ein vaskuläres Ereignis in der Vorgeschichte. Davon hatten vier Patienten (57,1%) eine KHK, zwei Patienten (28,6%) eine venöse Thrombose in der Anamnese und ein Patient (14,3%) eine TIA.

Von den Patienten mit KHK hatten drei Patienten (75%) eine Rejektion, und bei allen Patienten (100%) mit venösen Thrombosen und TIA kam es zur Abstoßung. Insgesamt hatten also sechs Patienten (85,7%) mit der MTHFR-C677T-Mutation eine „vascular disease“ und gleichzeitig eine Abstoßung.

### **3.5 Verteilung der Abstoßungsreaktionen Zweittransplantiertes**

	<b>CC</b>	<b>CT</b>	<b>TT</b>
Zweittransplantation	16 (22,5%)	22 (30,1%)	6 (35,3%)
davon jetzt Abstoßung	4 (25,0%)	9 (40,9%)	4 (66,7%)

*Tabelle 4: Verteilung der Abstoßungsreaktionen Zweittransplantiertes*

Patienten, die bereits zum zweiten Mal nierentransplantiert worden waren, wurden noch einmal gesondert auf Abstoßungsreaktionen untersucht.

Unter den Patienten der Gruppe „CC“ erhielten 16 Patienten (22,5%) ein Zweittransplantat. Davon hatten vier Patienten (25,0%) eine Rejektion.

Unter den heterozygoten Patienten fanden sich 22 (30,1%) Zweittransplantierte. Zehn dieser Patienten (43,5%) hatten eine Abstoßung.

Von den Patienten mit der MTHFR-C677T-Mutation waren acht (38,1%) zum zweiten Mal nierentransplantiert worden. Davon hatten sechs Patienten (75%) eine Abstoßung.



#### **4. DISKUSSION**

Zwischen dem 01.11.1997 und dem 31.12.2000 wurden 161 Patienten, die in der Chirurgischen Klinik des Universitätsklinikums Münster eine Nierentransplantation erhielten, auf genetisch bedingte prothrombotische Risikofaktoren untersucht.

In einer Nachbeobachtungszeit von 90 Tagen nach der Transplantation wurden alle auftretenden Abstoßungsreaktionen und ihre Ursachen registriert.

Bei der genetischen Untersuchung auf eine MTHFR-C677T-Mutation der 161 Patienten besaßen 71 Patienten das „CC“-, 73 Patienten das „CT“- und 17 Patienten das „TT“-Allel.

Bei 24 Patienten mit dem „CC“-Allel und bei 29 Patienten mit dem „CT“-Allel kam es zu einer Abstoßung.

Bei 12 von 17 Patienten mit „TT“-Allel fand eine Rejektion statt ( $p=0,0218$ ).

Die Studie zeigt, daß die MTHFR-C677T-Mutation signifikant mit einem erhöhten akuten Abstoßungsrisiko verbunden ist.

Der Zusammenhang zwischen Thrombophilie und akuter Abstoßung wird seit längerer Zeit diskutiert.

So berichteten Bachmann et al. bereits 1975 über das gehäufte Auftreten von Abstoßungsreaktionen bei Nierentransplantationen bei Patienten mit Gerinnungsstörungen. Ekberg et al. 2000 stellten bei Patienten mit FV Leiden eine erhöhte Inzidenz vasculärer Rejektionen fest.

Wuthrich et al. zeigten 2001 auf, daß die Faktor V Leiden (G1691A)-Mutation im Zusammenhang mit akuten Abstoßungsreaktionen zu stehen scheint.

Die erhöhte Thromboseneigung, die der MTHFR-C677T-Mutation folgt, soll an dieser Stelle näher erläutert werden.

Durch eine erhöhte Plasmakonzentration von Homocystein kommt es zur Verletzung des Gefäßendothels (Boushey et al. 1995). Die Endothelproliferation wird gehemmt und das Wachstum der glatten Muskelzellen stimuliert (Tsai et al. 1986 und 1994). Einige Autoren berichten, daß Homocystein die endothel-assoziierte Faktor-V-Aktivität verstärkt (Rodger et al. 1986). Die Thrombomodulin-Oberflächen-Expression (Lentz et al. 1991), die Protein C-Aktivierung (Rodger et al. 1990) und die Gewebe-Plasminogen-Aktivator-Bindung (Hajjar 1993) sollen gehemmt werden. Die sich aus diesem Zusammenhang ergebende vergrößerte Gefahr der Entwicklung von venösen Thrombosen, die mit einer Hyperhomocysteinämie assoziiert sind, ist vielfach, insbesondere bei jungen Menschen, bestätigt worden (Falcon et al. 1994, Fermo et al 1995).

Erhöhte Homocysteinspiegel ( $>7\mu\text{mol/l}$ ) sind jedoch nur in 50% der Fälle vererbt (Falcon et al. 1994).

Sie können durch Nierenerkrankungen mit verringertem Homocysteinabbau (Guttormsen et al. 1995) und geringerer renaler Ausscheidung (Stabler et al. 1987) oder durch Vitamin B<sub>12</sub>-oder Folsäuremangel (Rees et al. 1993) erworben sein. Auch regelmäßiger Alkoholkonsum und fortgeschrittenes Alter können erhöhte Homocysteinspiegel bewirken (Lalouschek et al. 1998).

Lalouschek et al. (1998) fanden beträchtlich höhere Homocystein-Konzentrationen bei Patienten mit Stenosen oder Verschlüssen der Carotiden und der AA. vertebrales gegenüber solchen ohne Verschlüsse kraniocervikaler Arterien. Ein entsprechendes Ergebnis bezüglich der Verteilung der Mutation bei symptomatischen Patienten mit Carotisstenose erhielten auch Markus et al. (1996). Bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit oder peripherer arterieller Verschlusskrankheit konnten erstaunlicherweise im Vergleich zu nicht betroffenen Personen keine signifikant erhöhten Spiegel dieser Aminosäure festgestellt werden. Allerdings unterschieden sich die oben genannten Gruppen nicht im Vorkommen der homozygoten und heterozygoten Mutation bzw. dem nicht veränderten Gen.

Auch Araujo et al. (1999), Thuillier et al. (1998), Chambers et al. (2000) und Meisel et al. (2001) konnten keinen Zusammenhang zwischen Mutationen im MTHFR-Gen und einem erhöhten KHK-Risiko nachweisen.

Eine Erklärung für das Beschriebene liefert die Studie von Nakata et al. (1998), die beschreibt, daß Patienten mit der TT-MTHFR-Mutante einen signifikant niedrigeren Blutdruck haben als die Bevölkerung ohne diese Mutation. Die nicht vorhandene Hypertonie gleicht so das infolge der Mutation höhere Risiko für eine Thrombenbildung wieder aus, so daß insgesamt kein erhöhtes Risiko für eine koronare Herzkrankheit besteht.

Jee et al. (2000) beschreiben, daß nach einer statistischen Auswertung aller über „medline“ verfügbaren Daten über die Korrelation zwischen der MTHFR-C677T-Mutation und KHK eine Mutation im MTHFR-Gen nur in Japan und in keiner anderen Population mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko verbunden ist.

Doch auch in neueren Studien wird weiterhin auf den Zusammenhang zwischen koronarer Herzkrankheit und dem Polymorphismus im MTHFR-Gen hingewiesen (Verhoeff et al. 1998, Kawashiri et al. 2000, Anderson et al. 2000, Payne et al. 2001, Benes et al. 2001).

Daß die homozygote MTHFR-C677T-Mutation das Risiko für arterielle und venöse Thromben erhöht, ist hingegen wahrscheinlich (de Franchis et al. 1996, Ridker et al. 1996, Arruda et al. 1997, Tosetto et al. 1997, Margaglione 1998, Couturaud 2000).

Kluijtmans und Whitehead (2001) berichten sogar über ein erhöhtes arteriothrombotisches Risiko für Heterozygote.

Einige Studien haben sich in jüngster Zeit mit dem Zusammenhang zwischen der MTHFR-C677T-Mutation und Transplantation befaßt.

Pethig et al. (2000) untersuchten die Häufigkeit der akuten kardialen vaskulären Erkrankung („cardiac allograft vascular disease“, CAVD) nach Herztransplantation bei Patienten mit erhöhtem Homocysteinspiegel. Sie konnten keinen Zusammenhang zwischen CAVD und erhöhten Homocysteinwerten nachweisen.

Födinger et al. (1999) untersuchten Homocystein-Plasmakonzentrationen bei Nierentransplantierten. Da die Homocystein-Plasmakonzentration bei Niereninsuffizienz aufgrund mangelnder renaler Ausscheidung meist erhöht ist, berücksichtigten sie ebenfalls die glomeruläre Filtrationsrate. Sie wiesen nach, daß bei Patienten mit C677T-Polymorphismus im MTHFR-Gen die Plasma-Homocysteinkonzentration signifikant erhöht und der Folsäurespiegel erniedrigt ist.

Födinger et al. (2000) untersuchten den Einfluß der MTHFR 1298A→C und MTHFR 677C→T – Mutationen auf Homocystein-, Folsäure- und Vitamin B<sub>12</sub>-Plasmakonzentrationen bei Nierentransplantierten. Es fanden sich sowohl bei allen homozygoten Mutationen als auch bei Heterozygoten weitaus höhere Homocystein-Konzentrationen als bei Patienten ohne Mutation im MTHFR-Gen.

Die Patienten unserer Studie haben sich nach einer individuell unterschiedlich langen Zeit der Dialysepflichtigkeit für eine Nierentransplantation entschieden. Es stellt sich die Frage, ob eine Transplantation mit ihren Folgen und Risiken tatsächlich eine Alternative zur Langzeitdialyse bietet.

Die Dialyse stellt keine kausale Therapie zur Behandlung einer terminalen Niereninsuffizienz dar. Insbesondere bei jüngeren Patienten ist ihrer Anwendung, bedingt durch Folgeerkrankungen und begrenzte Durchführbarkeitsdauer, ein zeitliches Limit gesetzt. Zudem bedeutet der zeitliche Aufwand einer regelmäßigen Dialyse für viele Patienten eine große Belastung und Verminderung der Lebensqualität, eine geregelte Berufstätigkeit ist oft nicht möglich.

Slama et al. untersuchten 1993 Aussagen von Dialysepatienten und Nierentransplantierten über deren Lebensqualität.

Es zeigte sich deutlich, daß Nierentransplantierte ihre Lebensqualität höher einschätzten als Patienten unter Hämodialyse oder Peritonealdialyse.

Eine Langzeitstudie in Norwegen durch Gorlen et al. 1993 beschreibt, daß 72% der zwischen 1963 und 1978 transplantierten Patienten 1993 voll berufstätig waren. Keiner von diesen Patienten gab an, größere psychologische Probleme zu haben.

Johnsen et al. (1982) hingegen zeigen durch ihre Studie, daß Dialysepatienten und erfolgreich nierentransplantierte Patienten ähnlich zufrieden mit ihrer Lebensqualität sind. Patienten nach nicht erfolgreicher Transplantation jedoch schienen wesentlich unglücklicher zu sein als Dialysepatienten.

Die jüngste Studie über dieses Thema in Deutschland durch Waiser et al. 1998 beschreibt, daß die Lebensqualität der Nierentransplantierten deutlich höher als bei Dialysepatienten empfunden wird. Dennoch sind Patienten nach einer Transplantation nicht häufiger berufstätig als Dialysepatienten.

Es stellt sich die Frage, ob auch die Überlebensrate bei Nierentransplantierten höher als bei Langzeit-Dialysepatienten ist.

Thomas und Lee zeigten 1976, daß in einer Nachbeobachtungszeit von etwa zehn Jahren nach Transplantation die Arterioskleroserate bei Nierentransplantierten deutlich niedriger als bei Dialysepatienten war. Hyperlipidämie und Hypertonie traten signifikant seltener auf.

Chantler et al. untersuchten 1980 Kinder unter Langzeitdialyse und nach Transplantation. Es zeigte sich deutlich, daß Wachstumsstörungen sowie psychologische und rehabilitative Probleme bei nierentransplantierten Kindern deutlich geringer waren.

Schnülle et al. beschrieben 1998, daß in Deutschland selbst in einem Zentrum, wo die Mortalitätsrate der Dialysepatienten vergleichsweise niedrig ist, die Überlebensrate nach Transplantation deutlich ansteigt.

Insgesamt läßt sich sagen , daß die Nierentransplantation eine wichtige Alternative zur Dialyse bietet. Das Für und Wider einer Transplantation muß durch die betreuenden Ärzte zusammen mit dem Patienten individuell abgewogen werden.

Bereits Anfang des 20. Jahrhunderts, noch vor der Entwicklung der Dialyse, wurde in diesem Bereich erstmals geforscht.

Am Beginn wissenschaftlicher Untersuchungen stehen die Arbeiten über Nierenverpflanzungen beim Hund (Ullmann 1902, Carrel 1902).

Schon in den 30er Jahren wurden die ersten Nieren auf den Menschen übertragen. Die erste erfolgreiche Nierentransplantation gelang erst 1954 an monozygoten Zwillingen in Boston (Merrill et al. 1956, Murray et al. 1958).

Heute unterscheidet man allgemein vier verschiedene Transplantationsformen:

- autologe Transplantation im selben Individuum
- isologe Transplantation zwischen monozygoten Zwillingen
- homologe/allogene Transplantation bei nicht-identischen Individuen der selben Spezies
- heterolog/xenogene Transplantation zwischen Individuen verschiedener Spezies

Man unterscheidet Organspenden von Personen nach sicherer Feststellung des Hirntodes von sogenannten Lebendspenden durch Verwandte oder dem Erkrankten sehr nahe stehende Personen. Die Zuweisung von Spenderorganen hirntoter Personen erfolgt in Deutschland durch „Eurotransplant“.

Um die Gewebeverträglichkeit der Spenderniere zu gewährleisten und somit das Risiko einer Rejektion zu vermindern, wird vor jeder Transplantation eine klinische Histokompatibilitätsbestimmung durchgeführt (Colombe und Garovoy 1989). Diese besteht aus drei Komponenten:

- Bestimmung der HLA-Antigene bei Empfänger und bei Lebend- oder Leichenspender
- gemischte lymphozytäre Reaktion (Mixed Lymphocyte Reaction, MLR), um den Grad der Immunreaktion gegen HLA-D-Differenzen zu bestimmen
- Crossmatching und Screening, um gegen das Spenderorgan gerichtete Alloantikörper zu entdecken, die den Empfänger zur Abstoßung des Transplantates prädisponieren (Kissmeyer-Nielsen et al. 1966, Williams et al. 1968).

Die operative Technik ist nach der ersten erfolgreichen Nierentransplantation durch Murray in Boston 1954 nur wenig verändert worden.

Bei der Transplantation wird durch einen transmuskulären lateralen Zugang zur Fossa iliaca die Bauchhöhle eröffnet.

Die Gefäße des Empfängers werden bis oberhalb der Iliakalgabel freigelegt, inspiziert und mobilisiert.

Die Vena renalis wird mit einer End-zu-Seit-Anastomose mit der V. iliaca externa verbunden.

Nach Ausklemmen der Arteria iliaca externa und communis folgt eine möglichst proximale Arteriotomie, so daß die A. renalis nach Anlage der arteriellen Anastomose spannungs- und knickfrei in einem nach kranial stumpfen Winkel zum Gefäß liegt.

Anschließend wird die Perfusion der transplantierten Niere freigegeben und der Spenderureter zur Wiederherstellung der Harnableitung präpariert.

Daraufhin wird die Ureterzystostomie extravesikal nach Lich-Gregoir oder transvesikal nach Politano-Leadbetter durchgeführt.

Es folgen noch die Einlage und separate Ausleitung der Drainagen, schichtweiser Verschluss der lateralen Bauchwand, Hautverschluss und steriler Verband (Barry 2000).

Nach jeder Transplantation eines fremden Organs in einen Körper besteht die Gefahr der Abstoßung. Um eine unerwünschte Immunreaktion des Empfängers, die zur Abstoßung des Transplantats führen könnte, zu unterdrücken, muß jeder Nierentransplantierte lebenslang immunsupprimierende Medikamente einnehmen.

Kortikosteroide, zytotoxische Medikamente (Mycophenolatmofetil, Azathioprin, Cyclophosphamid) und Cyclosporin A bilden die Grundlage der immunsuppressiven Therapie. Diese Pharmaka können in verschiedenen Kombinationen oder im Falle von Cyclosporin A als Monotherapie angewendet werden.

Die Tripeltherapie mit Prednison, Azathioprin und Cyclosporin galt lange Zeit in vielen Zentren als Standard (Dupont et al. 1984, Chan et al. 1987), wobei zum heutigen Zeitpunkt in der Regel das Azathioprin durch das neuere Mycophenolatmofetil ersetzt worden ist.

Ein weiteres gebräuchliches Immunsuppressivum ist Tacrolimus, das in unserer Studie Zweittransplantierte anstelle von Cyclosporin A erhielten.

Bei der Abstoßung von Nierentransplantaten unterscheidet man klinisch vier verschiedene Formen:



### 1. hyperakute Abstoßungsreaktion:

Sie tritt innerhalb von wenigen Minuten bis Stunden nach der Transplantation auf und wird durch präformierte zytotoxische Anti-HLA-Antikörper (meist IgG) verursacht, die gegen das Transplantat gerichtet sind (Salomon und Strom 1986, Toledo-Pereyra 1988). Die Antikörper sind vor allem gegen MHC-Antigene der 1. Klasse gerichtet und entstehen durch Sensibilisierung mittels Bluttransfusionen, durch Schwangerschaften oder durch vormalige Abstoßung eines Nierentransplantats. Eine hyperakute Abstoßung kann ebenfalls bei ABO-Inkompatibilität auftreten. Sie ist klinisch eindeutig und kann nicht behandelt werden. Bei negativem Crossmatch und unter Berücksichtigung der Blutgruppenverträglichkeit ist sie extrem selten geworden.

### 2. akzelerierte Abstoßungsreaktion

Sie wird durch sekundäre Immunantwort durch Antikörper und/oder aktivierte Lymphoblasten vermittelt und tritt etwa zwei bis fünf Tage nach Transplantation auf. Diese Abstoßungsform ist meistens therapieresistent, ein Therapieversuch besteht in der Gabe von ATG, einem Antilymphozyten-Globulin, oder OKT3, einem monoklonalen T-Lymphozyten-Blocker..

### 3. akute Abstoßungsreaktion

Sie wird meist in den ersten zwei Wochen nach Nierentransplantation beobachtet, kann aber jederzeit auch später, vor allem bei ungenügender Immunsuppression, auftreten (Delmonico et al. 1989, Salomon 1986). Die Inzidenz ist am größten in den ersten drei, weniger in den ersten sechs Monaten und gering ein Jahr nach der Transplantation (Wüthrich 1995). Aus diesem Grund wurden alle Abstoßungen bis zu 90 Tagen nach Transplantation in unsere Studie eingeschlossen.

Um eine Aussage über die Form der akuten Abstoßung treffen zu können, muß eine histologische Untersuchung des Nierengewebes erfolgen. Lag bei Patienten eine erhöhte Blutungsneigung oder eine massive Schwellung des Organs vor, wurde in unserer Studie auf eine Punktion verzichtet, da sie den Patienten in einem solchen Fall vital gefährden kann.

Die akute Abstoßungsreaktion tritt in zwei überlappenden Formen auf:

- vaskuläre Abstoßung: Das Gefäßendothel wird durch Antikörper attackiert und zerstört. Die komplement-vermittelte Chemotaxe führt zu Leukozyteninfiltration, die Thrombosierung der Nierenarteriolen erzeugt eine Ischämie, welche das Transplantat zusätzlich schädigt (Wüthrich 1995).

Die vaskuläre Abstoßung wird durch HLA-Antikörper verursacht, ein Zusammenhang der Thrombosierung mit Thrombophilie wird diskutiert (Heidenreich et al. 1999).

- interstitielle Abstoßung: Sie ist die häufigste Form der Abstoßungsreaktionen und durch Tubulitis und dichte Lymphozyteninfiltration charakterisiert. Je nach Ort der Infiltration und Schädigung bezeichnet man diese Abstoßung auch als „tubulär“.

#### 4. chronische Abstoßung

Die chronische Abstoßung wird durch eine langsame, immunologisch vermittelte Zerstörung des Transplantats verursacht. Die Läsionen können vaskulär, interstitiell oder glomerulär sein und führen zu einer progressiven Fibrose des Transplantats. Klinisch ist diese Form der Abstoßung durch ein über Monate langsam ansteigendes Serumkreatinin gekennzeichnet. Sie tritt häufig trotz adäquater Immunsuppression auf und ist schwer zu therapieren.

Viele histologische Studien haben gezeigt, daß die akute Abstoßung eines Nierentransplantats mit der Formierung intravaskulärer Mikrothromben, kapillärer Thrombozyten-Fibrin-Aggregationen und arteriellen oder venösen Thromboembolien einher gehen (Olsen 1992; Solez et al. 1993).

Diese Veränderungen wurden meist durch die Manifestation der akuten Rejektion selbst erklärt. Manche Forscher sahen darin jedoch einen Bezug zu Gerinnungsabnormalitäten, die durch immunsuppressive Therapie, Urämie oder das Hämolytisch-Urämische-Syndrom als primäre Erkrankung ausgelöst werden können (Vanrenterghem et al. 1985, Bonsib et al. 1985, Rabelink et al. 1994).

Insbesondere venöse oder arterielle Transplantatthrombosen verursachen in 2-7% der Fälle einen frühen Transplantatverlust (Gray 1994, Penny et al. 1994, Bakir 1996).

Obwohl die oben genannten Ursachen nachweislich zu Gerinnungsstörungen führen können, konnte in prospektiven und retrospektiven Studien ein direkter, reproduzierbarer Zusammenhang mit Transplantatthrombosen nicht hergestellt werden.

Neuere Erkenntnisse über Thrombophilie legten die Frage nahe, ob nicht die genetische Prädisposition zu arteriellen oder venösen Thrombosen eine Ursache für Transplantatthrombosen sein könnten.

So berichteten Koester et al. 1993, Fischereder et al. 1998 und Irish et al. 1999 über hereditäre Thrombophilie als mögliche Ursache rezidivierender Transplantatthrombosen.

Fischereder et al. veröffentlichten 2001 über das erhöhte Risiko eines Organverlustes nach Transplantation bei Patienten mit der G20210A-Mutation des Prothrombin-Gens.

Oh et al. berichteten 1999 über Organverlust durch Transplantatthrombosen bei Patienten mit Mutationen im Prothrombin-Gen.

Humar et al. postulierten 2001 die generelle postoperative low-dose-Heparinisierung mit anschließender regelmäßiger Gabe von Acetylsalicylsäure oder Coumarinen bei nierentransplantierten Patienten mit Thromboseneigung. Dies solle insbesondere dann erfolgen, wenn bereits in der Vorgeschichte eine Transplantatthrombose zum Organverlust geführt hat.

Da eine erhöhte Thromboseneigung ein erhöhtes Risiko für eine Abstoßungsreaktion bedeuten könnte, ist für die Beurteilung genereller therapeutischer Konsequenzen die Häufigkeit der genetischen Prädisposition von großer Bedeutung.

Die Prävalenz der homozygoten C677T-Mutation wird zwischen 5% (Kluijtmans et al. 1996, Kang et al. 1988, Kang et al. 1989) und 6% (Whitehead et al. 1995) für Nordeuropäer und 22% (Cattaneo et al. 1997) für Südeuropäer angegeben. Sie beträgt 1,4% bei Afro-Amerikanern (Ubbink et al. 1995) und 12% bei Kanadiern (Frosst et al. 1995).

Die geringe Prävalenz des mutierten MTHFR-Allels bei Afro-Amerikanern und indianischen Gruppen (1,2%) (Arruda et al. 1998) dient als mögliche Erklärung für die geringe Inzidenz von thromboembolischen Erkrankungen in diesen Populationen (Ubbink et al. 1995, Stevenson et al. 1997).

In unserem Patientengut fand sich der MTHFR-T677-Genotyp in 10,6% der nierentransplantierten Patienten.

Der Anteil an Trägern dieser Mutante entspricht der Prävalenz in der Normalbevölkerung und läßt vermuten, daß für Merkmalsträger das Risiko, an einer terminalen Niereninsuffizienz zu erkranken, nicht erhöht ist. Dies wird durch eine Studie von Födinger et al. (1997) bestätigt.

Der Anteil an heterozygoten Merkmalsträgern betrug 45,3%.

Auch die Heterozygotie führt zu einer Erhöhung des Homocysteinspiegels, die jedoch geringer ausgeprägt ist als bei homozygoten Merkmalsträger (Frosst et al. 1995, Ma et al. 1996).

In neueren Studien wird die MTHFR-C677T-Mutation mit weiteren Erkrankungen in Verbindung gebracht.

So sehen Kowa et al. (2000) in ihr eine mögliche Ursache für Migräne.

Gershoni-Baruch et al. (2000) vermuten einen Zusammenhang der Mutation mit einem erhöhten Risiko für Mamma- und Ovarialkarzinom.

Kimura et al. (2000) fanden eine erhöhte Inzidenz der Mutation unter Patienten mit Prostatakarzinom.

Hasbargen et al. (2000) stellen fest, daß bei Frauen mit homozygoter MTHFR-C677T-Mutation die Anzahl dichorionischer Schwangerschaften deutlich niedriger ist als bei Frauen ohne diese Mutation.

Das Risiko der Entwicklung einer Spina bifida soll bei Schwangeren mit Mutation erhöht sein (Kimura et al. 2000).

Ebenso fand sich ein erhöhtes Risiko für Merkmalsträger, einen Zentralvenen- oder Zentralarterienverschluß zu erleiden, (Larsson et al. 2000, Cahill et al. 2001).

Umwandlung und Abbau von Homocystein im Körper erfordern die Anwesenheit von Folsäure, Vitamin B<sub>12</sub> und Vitamin B<sub>6</sub>. Ist der Organismus nicht ausreichend mit diesen Substanzen versorgt, so zeigt sich dies unter anderem schon sehr früh in einem Anstieg des Homocysteinspiegels (Brönstrup und Pietrzik 1996).

Stabler et al. (1988) stellten bei Patienten mit einem Vitamin B<sub>12</sub>-Mangel bzw. Folsäuremangel deutlich erhöhte Homocystein-Plasmakonzentrationen fest.

Ueland et al. (1993) zeigten, daß Personen mit niedrigen Homocysteinspiegeln eine guten Versorgungsstatus an Vitamin B<sub>12</sub> bzw. Folsäure aufweisen, während mit abnehmenden Blutvitaminspiegeln die Homocystein-Konzentrationen ansteigen.

Durch Substitution der am Homocystein-Stoffwechsel beteiligten Vitamine läßt sich der Homocysteinspiegel senken.

Bei kombinierter täglicher Gabe von Folsäure, Vitamin B<sub>12</sub> und Vitamin B<sub>6</sub> in 2,5 bis 4facher Dosis, verglichen mit dem Tagesbedarf, konnte eine Senkung in Höhe von 17 bis 50% festgestellt werden (Dierkes 1994, Ubbink et al. 1994).

Auch bei Patienten mit der TT-MTHFR-Mutation konnten niedrige Folsäure- und Vitamin B<sub>12</sub>-Spiegel nachgewiesen werden (Zittoun et al. 1998, Verhoeff et al. 1998).

Ebenso läßt sich bei Merkmalsträgern der Homocysteinspiegel durch Folsäure- und Vitamin B<sub>12</sub>-Gabe senken (Gonzalez Ordonez et al. 2000, Chango et al. 2000, D'Angelo et al. 2000, Kauwell et al. 2000.)

Um die Wirksamkeit einer Supplementierung dieser Vitamine ist bei nierentransplantierten Trägern der MTHFR-T677T-Mutation nachzuweisen, sind weitere prospektive Studien erforderlich.

## **5. LITERATURVERZEICHNIS**

- 1) Anderson JL, Muhlestein JB, Horne BD, Carlquist JF, Bair TL, Madsen TE, Pearson RR. Plasma homocysteine predicts mortality independently of traditional risk factors and C-reactive protein in patients with angiographically defined coronary artery disease. *Circulation* 2000; 102(11):1227-1232.
- 2) Amer L, Kisiel W, Searless RP, Williams RC Jr. Impairment of the Protein C anticoagulant pathway in a patient with systemic lupus erythematoses, anticardiolipin antibodies and thrombosis. *Thromb Res* 1990; 57: 247-258.
- 3) Araujo F, Santos A, Araujo V, Henriques I, Monteiro F, Meireles E, Moreira I, David D, Maciel MJ, Cunha-Ribeiro LM. Genetic risk factors in acute coronary disease. *Haemost* 1999; 29(4): 212-218.
- 4) Arruda VR, Siqueira LH, Goncalves MS, von Zuben PM, Soares MCP, Menezes R, Annichino-Bizzacchi JM, Costa FF. Prevalence of the mutation C677T in the methylenetetrahydrofolate reductase gene among distinct ethnic groups in Brazil. *Am J Med Gen* 1998; 78: 332-335.
- 5) Arruda VR, von Zuben PM, Chiapparini LC, Annichino-Bizzacchi JM, Costa FF. The mutation Ala677→Val in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: a risk factor for arterial disease and venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1997; 5: 818-821.
- 6) Bachmann F. Plasminogen activators. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW. *Haemostasis and Thrombosis. Basic Principles and Clinical Practice*, 2<sup>nd</sup> ed. Lippincott, Philadelphia 1987.

- 7) Bachmann F. Fibrinolysis. In: Verstraete M, Vermeylen J, Lijnen R, Arnout J. Thrombosis and haemostasis. Leuven University Press 1984; 227-265.
- 8) Bachmann F, Ing TS, Sagartz S. Hypercoagulability and compensated intravascular coagulation in chronic kidney insufficiency and after kidney transplantation. Schweiz Med Wochenschr 1975; 105 (51): 1771-1773.
- 9) Bakir N, Sluiter WJ, Ploeg RJ, van Son WJ, Tegzess AM. Primary renal graft thrombosis. Nephrol Dial Transplant 1996; 11: 140-147.
- 10) Barton PG. Sequence theory of blood coagulation reevaluated with reference to lipid-protein interactions. Nature 1967; 215: 1508-1509.
- 11) BenesP, Kankova K, Muzik J, Benedik J, Elbl L, Izakovicova-Holla L, Vasku A, Znojil V, Vacha J. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, type II diabetes mellitus, coronary artery disease and essential hypertension in the Czech population. Mol Genet Metab 2001; 73(2): 188-195.
- 12) Bettelheim FR. The clotting of fibrinogen. II Fractination of peptide material liberated. Biochem Biophys Acta 1956; 19: 121.
- 13) Blombäck B, Hessel B, Hogg D, Therkildsen L. A two-step fibrinogen-fibrin transition in blood coagulation. Nature 1978; 275: 501-505.
- 14) Bock SC, Wion KL, Vehar GA, Lawn RM. Cloning and expression of the cDNA for human antithrombin III. Nucl Acids Res 1982; 10: 8113-8125.



15) Bonsib SM, Ercolani L, Ngheim D, Hamilton HE. Recurrent thrombotic microangiopathy in a renal allograft. Case report and review of the literature. *Am J Med* 1985 Oct; 79(4): 520-527.

16) Bouma BN, Griffin HJ. Initiation mechanisms: the contact activation system in plasma. In: Zwaal RFA, Hemker HC (eds) *Blood coagulation*. Elsevier. Amsterdam – New York – Oxford 1977; 103-128.

17) Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS et al. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995; 274: 1049-1057.

18) Bradley JR, Evans DB, Calne RY. Long-term survival in haemodialysis patients. *Lancet* 1987; 9: 295-296.

19) Brönstrup A, Pietrzik K. Bedeutung von Homocystein bei der Entstehung von Atherosklerose-Ist eine Supplementierung von Vitaminen sinnvoll? *Ernährungs-Umschau* 1996; 14: 80-87.

20) Burrowes CE, Habal FM, Movat HZ. The inhibition of human plasma kallikrein by antithrombin III. *Thromb Res* 1975; 7: 175-183.

21) Cahill M, Karabatzaki M, Donoghue C, Meleady R, Mynett-Johnson LA, Mooney D, Graham IM, Whitehead AS, Shields DC. Thermolabile MTHFR genotype and retinal vascular occlusive disease. *Br J Ophthalmol* 2001 Jan;85(1): 88-90.

- 22) Carrel A. La technique opératoire des anastomoses vasculaires et la transplantation des viscères. Lyon Méd 1902; 98: 859.
- 23) Cattaneo M, Tsai MY, Bucciarelli P, Taioli E, Zighetti M, Bignell M, Mannucci PM. A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene (C677T) increases the risk for deep vein thrombosis in patients with mutant factor V (factor V: Q<sup>506</sup>). Arterioscler Thromb Vasc Biol 1997; 17: 1662-1666.
- 24) Chambers JC, Ireland H, Thompson E, Reilly P, Obeid OA, Refsum H, Ueland P, Lane DA, Kooner JS. Methylenetetrahydrofolat reductase 677C→T mutation and coronary heart disease risk in UK indian asians. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2000. 20(11): 2448-2452.
- 25) Chan GLC, Canafax DM Johnson CA. The therapeutic use of azathioprine in renal transplantation. Pharmacotherapy 1987; 7: 165.
- 26) Chandra T, Stackhouser R, Kidd VJ, Woo SLC. Isolation and sequence characterization of a cDNA clone of human antithrombin III. Proc Natl Acad Sci USA 1983; 80: 1845-1848
- 27) Chango A, Boisson F, Barbe F, Quilliot D, Droesch S, Pfister M, Fillon-Emery N, Lambert D, Fremont S, Rosenblatt DS, Nicolas JP. The effect of 677C -->T and 1298A-->C mutations on plasma homocysteine and 5,10-methylenetetra-hydro-folate reductase activity in healthy subjects. Br J Nutr 2000 Jun;83(6): 593-596.

- 28) Chantler C, Carter JE, Bewick M, Counahan R, Cameron JS, Ogg CS, Williams DG, Winder E. 10 years' experience with regular haemodialysis and renal transplantation. *Arch Dis Child* 1980 Jun; 55(6): 435-45.
- 29) Colombe BW, Garovoy MR. Clinical histocompatibility testing. In: Milford EL, Brenner BM, Stein JH (eds). *Renal transplantation. Contemporary issues in nephrology*. Vol 19, chap 2. Churchill-Livingstone 1989, New York; pp21-43.
- 30) Comp PC, Esmon CT. Recurrent venous thromboembolisms in patients with a partial deficiency of protein S. *New Engl J Med* 1984; 311: 49
- 31) Cooper AJL. Biochemistry of sulfur-containing amino acids. *Ann Rev Biochem* 1983; 52: 187-222.
- 32) Couturaud F, Oger E, Abalain JH, Chenu E, Guias B, Floch HH, Mercier B, Mottier D, Leroyer C. Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T Genotype and Venous Thromboembolic Disease. *Respiration* 2000 Nov;67(6): 657-661.
- 33) D'Angelo A, Coppola A, Madonna P, Fermo I, Pagano A, Mazzola G, Galli L, Cerbone AM. The role of vitamin B12 in fasting hyperhomocysteinemia and its interaction with the homozygous C677T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene. A case-control study of patients with early-onset thrombotic events. *Thromb Haemost* 2000 Apr;83(4): 563-70.
- 34) Dahlbäck B. Protein S and C4b-binding protein: Components involved in the regulation of protein C anticoagulant system. *Thromb Haemost* 1991; 66: 49-61.

35) Damus PS, Hicks M, Rosenberg RD. Anticoagulant action of heparin. *Nature* 1973; 246: 355-357.

36) Deetjen P, Speckmann E. *Physiologie des Blutes*. Urban&Schwarzenberg Verlag München-Wien-Baltimore 1994; S. 287-290.

37) Degoulet P, Legrain M, Reach I, et al.. Mortality risk factors in patients treated by chronic hemodialysis. Report of the "Diaphane" Collaborative Study. *Nephron* 1982; 31: 103-110.

38) Delmonico FL, Tolkoff-Rubin N. Treatment of acute rejection. In: Milford EL, Brenner BM, Stein JH (eds). *Contemporary issues in nephrology*, vol 19: chap 6. Renal transplantation 1989. Churchill-Livingstone, New York; pp129-146.

39) Demers C, Ginsberg JS, Hirsh J, Henderson P, Blajchmann MA. Thrombosis in antithrombin-III-deficient persons. Report of a large kindred and literature review. *Ann Intern Med* 1992; 116:754-61.

40) De Franchis R, Mancini FP, D'Angelo A, Sebastio G, Fermo I, De Stefano V. Elevated total plasma homocysteine and 677C→T mutation of the 5,10-methylenetetrahydrofolat reductase gene in thrombotic vascular disease. *Am J Hum Genet* 1996; 59: 262-264.

41) De Stefano V, Chiusolo P, Paciaroni K, Casorelli I DiMario A, Rossi E, Leone G. Prevalence of Factor II G20210A Mutation in Symptomatic Patients with Inherited Thrombophilia. *Thromb Haemost* 1998; 80: 342-343.

- 42) Dierkes J. Vitamin requirements for the reduction of homocysteine blood levels in healthy young women. Diss. Landwirtschaftl. Fakultät der Universität Bonn. Bonn 1994.
- 43) Dolan G, Preston FE. Familial plasminogen deficiency and thromboembolism. *Fibrinolysis* 1988; 2:26-34.
- 44) Dupont E, Wybran J, Toussaint C. Glucocorticosteroids and organ transplantation. *Transplantation* 1984; 37: 331.
- 45) Ekberg H; Svensson PJ; Simanaitis M; Dahlback B. Factor V R506Q mutation (activated protein C resistance) is an additional risk factor for early renal graft loss associated with acute vascular rejection. *Transplantation* 2000; 69(8): 1577-81.
- 46) Engesser L, Kluft C, Briet F, Brommer EJ. Familial elevation of plasma histidine rich glycoprotein deficiency in a family with thrombophilia. *Br J Haematol* 1987; 67: 355-358.
- 47) Esmon CT, Owen W. Functional properties of endothelial cell cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 2248-2252 .
- 48) Falcon C, Cattaneo M, Panzeri D, Martinelli I, Mannucci PM. High prevalence of homocysteinemia in patients with juvenile venous thrombosis. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 1080-1083.

- 49) Fermo I, Vigano D'Angelo S, Paroni R, Mazzola G, Calori G, D'Angelo A. Prevalence of moderate hyperhomocysteinemia in patients with early-onset venous and arterial occlusive disease. *Ann Intern Med* 1995; 123: 747-753.
- 50) Finazzi G, Caccia R, Barbui T. Different prevalence of thromboembolism in the subtypes of congenital antithrombin III deficiency: review of 404 cases. *Thromb Haemost* 1987; 58: 1094
- 51) Fischereeder M, Göhring P, Schneeberger H, Lohmann P, Von Appen K, Samtleben W, Schlöndorf D, Land W. Early loss of renal transplants in patients with thrombophilia. *Transplantation* 1998; 65: 936-939.
- 52) Fischereeder M, Schneeberger H, Lohse P, Kramer BK, Schlöndorff D, Land W. Increased rate of renal transplant failure in patients with the G20210A mutation of the prothrombin gene. *Am J Kidney Dis* 2001; 38 (5): 1061-1064.
- 53) Födinger M, Buchmayer H, Heinz G, Papagiannopoulos M, Kletzmayer J, Rasoul-Rockenschaub S, Horl WH, Sunder-Plassmann G. Effect of MTHFR 1298A→C and MTHFR 677C→T genotypes on total homocysteine, folate and vitamin B(12) plasma concentrations in kidney graft recipients. *J Am Soc Nephrol* 2000. 11(10): 1918-1925.
- 54) Födinger M, Mannhalter C, Wolf G, Pabinger I, Muller E, Schmid R, Horl WH, Sunder-Plassmann G. Mutation (677 C to T) in the methylenetetrahydrofolate reductase gene aggravates hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1997 Aug;52(2): 517-23.

- 55) Födinger M, Wolf G, Fischer G, Rasoul-Rockenschaub S, Schmid R, Horl WH, Sunder-Plassmann G. Effect of MTHFR 677C→T on plasma total homocysteine levels in renal graft recipients. *Kidney Int* 1999; 55(3): 1072-1080.
- 56) Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJH, den Heijer M, Kluijtmans LAJ, van den Heuvel LP, Rozen R. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in the methylenetetrahydro-folate reductase. *Nat Genet* 1995; 10: 111-113.
- 57) Gershoni-Baruch R, Dagan E, Israeli D, Kasinetz L, Kadouri E, Friedman E. Association of the C677T polymorphism in the MTHFR gene with breast and/or ovarian cancer risk in Jewish women. *Eur J Cancer* 2000 Dec 1;36(18): 2313-2316.
- 58) Gessler U. Klinik der Urämie. In: Losse H (Hrsg). *Klinische Nephrologie*. Georg-Thieme-Verlag Stuttgart New York 1977, Bd1: pp432-438.
- 59) Gladson CL, Scharper I, Hach V, Beck KH, Griffin JH. The frequency of type I heterozygous protein S and protein C deficiency in 141 unrelated young patients with venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1988; 59: 18-22.
- 60) Gonzalez Ordonez AJ, Medina Rodriguez JM, Fernandez Alvarez CR, Sanchez Garcia J, Fernandez Carreira JM, Alvarez Martinez MV, Coto Garcia E. Lowering high levels of fasting total homocysteine with folic acid and vitamins B in patients with venous thromboembolism: relationship between response and the C677T methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genotype. *Med Clin (Barc)* 2000 Jan 15;114(1):7-12.

- 61) Gorlen T, Ekeberg O, Abdelnoor M, Enger E, Aarseth HP. Quality of life after kidney transplantation. A 10-22 years follow-up. *Scand J Urol Nephrol* 1993; 27(1): 89-92.
- 62) Graefe U, Schmitt C. Die urämische Polyneuropathie. In: Losse H (Hrsg). *Klinische Nephrologie*. Georg-Thieme-Verlag Stuttgart New York 1977, Bd1: 432-438.
- 63) Gray DWR. Vascular and lymphocytic complications after renal transplantation. In: Morris PJ (ed.). *Kidney Transplantation*. 4<sup>th</sup> edn. Saunders, Philadelphia, 1994; 314-329.
- 64) Gross R, Schölmerich P, Gerok W. *Lehrbuch der Inneren Medizin*. Schattauer Verlag Stuttgart New York 1987; 919-935.
- 65) Gurewich V, Pannel R, Louie S, Kelley P, Suddith RL, Grunly K. Effective and fibrin-specific clot lysis by a zymogen precursor of urokinase (pro-urokinase). A study in vitro and two animal species. *J Can Invest* 1984; 73: 1731-1739.
- 66) Guttormsen AB, Svarstad E, Ueland PM, Refsum H. Elimination of homocysteine from plasma in subjects with endstage renal failure. *Ir J Med Sci* 1995; 164:8.
- 67) Hajjar KA. Homocysteine-induced modulation of tissue plasminogen activator binding to endothelial cell membrane receptor. *J Clin Invest* 1993; 91: 2873-2879.



- 68) Harpel PC, Chang VT, Borth W. Homocysteine and other sulphydryl compounds enhance the binding of lipoprotein(a) to fibrin: a potential biochemical link between thrombosis, atherogenesis and sulphydryl compound metabolism. *Proc Natl Sci USA* 1992; 89: 12098-10103.
- 69) Hasbargen U, Lohse P, Thaler CJ. The number of dichorionic twin pregnancies is reduced by the common MTHFR 677C--> T mutation. *Hum Reprod* 2000 Dec;15(12): 2659-2662.
- 70) Heidenreich S, Dercken C, August C, Koch HG, Nowak-Göttl U. High rate of acute rejections in renal allograft recipients with thrombophilic risk factors. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 1309-1313.
- 71) Heidenreich S, Nowak-Göttl U, August C. Hypercoagulable state and graft rejection – is there a link?. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 2293-2296.
- 72) Heinecke JW, Rosen H, Suzuki LA, Chait A. The role of sulfur-containing amino-acids in superoxide production and modification of low density lipoprotein by arterial smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 1314-1320.
- 73) Hemker HC, Kahn MJP. Reaction of blood coagulation. *Nature* 1967; 215: 1201-1202.
- 74) Henning HV. Chronische Niereninsuffizienz – Urämie. In: Siegenthaler W, Kaufmann W, Hornbostel H, Waller HD. *Lehrbuch der inneren Medizin*. Georg-Thieme-Verlag Stuttgart New York 1992; S. 532-536.

- 75) Herold G und Mitarbeiter; Innere Medizin – Eine vorlesungsorientierte Darstellung. Herold G (Eigenverlag ) Köln 1999; 516.
- 76) Highsmith RF, Rosenberg RD. The inhibition of human plasmin by human antithrombin-heparin-cofactor. *J Biol Chem* 1974; 249: 4335-4338.
- 77) Hirsh J, Piovella F, Pini M. Congenital antithrombin III deficiency. Incidence and clinical features. *Am J Med* 1989; 87 (suppl 3B): 34S-38S.
- 78) Hougie C, Denson KWE, Biggd E. A study of reaction product of factor VIII and factor IX by gel filtration. *Thrombos Diathes Haemorrh* 1967; 38: 58-67.
- 79) Humar A, Key N, Ramcharan T, Payne WD, Sutherland DE, Matas AJ. Kidney retransplants after initial graft loss to vascular thrombosis. *Clin Transplant* 2001; 15 (1): 6-10.
- 80) Ichinose A, Fujikawa K, Suayama T. The activation of urokinase by plasma kallikrein and its inactivation by thrombin. *J Biol Chem* 1986; 261: 3486-3489.
- 81) Irish A. Renal allograft thrombosis: can thrombophilia explain the inexplicable?. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 2297-2303.
- 82) Jee SH, Beaty TH, Suh I, Yoon Y, Appel LJ. The methylenetetrahydrofolat reductase gene is associated with increased cardiovascular risk in Japan, but not in other populations. *Atherosclerosis* 2000; 153(1): 161-168.
- 83) Jobin F, Esnouf M. Studies of the formation of prothrombin-converting complex. *Biochem J* 1967; 102: 666-674.

- 84) Johnson JP, McCauley CR, Copley JB. The quality of life of hemodialysis and transplant patients. *Kidney Int* 1982 Sep;22(3): 286-91.
- 85) Junker R, Nowak-Göttl U. The Prothrombin G20210A mutation – a common cause of thrombophilia? *J Lab Med* 1998; 22: 472-482.
- 86) Kang SS, Wong PWK, Susmano A, Sora J, Norusis M, Ruggie N. Thermolabile methyleneterahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. *Am J Hum Genet* 1991; 48: 536-545.
- 87) Kang SS, Wong PWK, Zhou J, Sora J, Lessick M, Ruggie N, Grcevich G. Thermolabile methyleneterahydrofolate reductase in patients with coronary disease. *Metabolism* 1988. 37: 611-613.
- 88) Kang SS, Zhou J, Wong PWK, Kowalisyn J, Stokosh G. Intermediate homocysteinemia: a thermolabile variant of methylenetetrahydrofolate reductase. *Am J Hum Genet* 1988; 43: 414-421.
- 89) Kauwell GP, Wilsky CE, Cerda JJ, Herrlinger-Garcia K, Hutson AD, Theriaque DW, Boddie A, Rampersaud GC, Bailey LB. Methylenetetrahydrofolate reductase mutation (677C→T) negatively influences plasma homocysteine response to marginal folate intake in elderly women. *Metabolism* 2000; 49(11): 1440-1443.
- 90) Kawashiri M, Kajinami K, Nohara A, Yagi K, Inazu A, Koizumi J, Mabuchi H. Effect of common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation on coronary artery disease in familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2000. 86(8): 840-845.

- 91) Kienast J, Ostermann H, Mesters R. Sepsis und disseminierte intravasale Gerinnung. In: Martin E, Nawroth P. Fachübergreifende Aspekte der Hämostaseologie. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1994.
- 92) Kimura F, Franke KH, Steinhoff C, Golka K, Roemer HC, Anastasiadis AG, Schulz WA. Methyl group metabolism gene polymorphisms and susceptibility to prostatic carcinoma. *Prostate* 2000 Nov 1;45(3): 225-31.
- 93) Kisiel W. Human plasma protein C. Isolation, characterization and mechanism of activation by alpha-thrombin. *J Clin Invest* 1979; 64: 761-769.
- 94) Kluijtmans LAJ, van den Heuvel LP, Boers GHJ, Frosst P, Stevens EMB, van Ost BA, den Heijer M, Trijbels FJM, Rozen R, Blom HJ. Molecular genetic analysis in mild hyperhomocysteinemia: a common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a risk factor for cardiovascular disease. *Am J Hum Genet* 1996; 58: 35-41.
- 95) Kluijtmans LA, Whitehead AS. Methylenetetrahydrofolate reductase genotypes and predisposition to atherothrombotic disease; evidence that all three MTHFR C677T genotypes confer different levels of risk. *Eur Heart J* 2001; 22(4): 294-299.
- 96) Koester BH, Köveker GB, Pötsch B, Becker HD. Hereditäre Thrombophilie als Ursache rezidivierender Transplantatthrombosen. *Der Chirurg* 1993; 64: 809-812.

- 97) Kowa H, Yasui K, Takeshima T, Urakami K, Sakai F, Nakashima K. The homozygous C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for migraine. *Am J Med Genet* 2000 Dec 4;96(6): 762-4.
- 98) Kristensen P, Larson LI, Nielsen LS, Grondahl-Hansen J, Andreassen PA, Dano K. Human endothelial cells contain one type of plasminogen activator. *FEVBS Lett* 1984; 168: 33-37.
- 99) Lalouschek W, Aull S, Korninger L, Mannhalter C, Pabinger-Fasching I, Schmid RW, Schnider P, Zeiler K. 677C to T mutation in the 5,10-methylene-tetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and plasma homocyst(e)ine levels in patients with TIA or minor stroke. *J Neurol Scienc* 1998; 155: 156-162.
- 100) Lane DA, Ireland H, Olds RJ, Thein SL, Perry DJ, Alach M. Antithrombin III: a database of mutations. *Thromb Haemost* 1991; 66: 657-661.
- 101) Larsson J, Hultberg B, Hillarp A. Hyperhomocysteinemia and the MTHFR C677T mutation in central retinal vein occlusion. *Acta Ophthalmol Scand* 2000 Jun;78(3): 340-3.
- 102) Lentz SR, Sadler JE. Inhibition of thrombomodulin surface expression and protein C activation by thrombogenic agent homocysteine. *J Clin Invest* 1991; 88: 1906-1916.
- 103) Lijnen HR, Hoylaerts M, Collen D. Isolation and characterization of a human plasma protein with affinity for the lysine binding sites in plasminogen. Role in the regulation of fibrinolysis and identification as histidine rich glycoprotein. *J Biol Chem* 1980; 255: 10214-10222.

- 104) Lindner A, Charra B, Sherrard DJ, Scribner BH. Accelerated atherosclerosis in prolonged maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* 1974; 290: 697-702.
- 105) Ma J, Stampfer MJ, Hennekens C, Frosst P, Selhub J, Horsford J, Malinow MR, Willet WC, Rozen R. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, plasma folate, homocysteine and risk of myocardial infarction in US physicians. *Circulation* 1996; 94: 2410-2416.
- 106) Mammen EF, Thomas WR, Seegers WH. Activation of a purified thrombosis to autoprothrombin I or autoprothrombin II (platelet cofactor II or autoprothrombin II-A). *Thromb Diath Haemorrh* 1960; 5: 218-249.
- 107) Mannucci PM, Tripodi A. Laboratory screening of inherited thrombotic syndromes. *Thromb Haemost* 1987; 57: 247-251.
- 108) Marciniak E, Romond EH. Inhibitor of human blood coagulation elicited by thrombin. *J Lab Clin Med* 1972; 79: 921-934.
- 109) Margaglione M, D'Andrea G, d'Addetta M, Guiliani N, Cappucci G, Iannacone L, Vecchione G, Grandone E, Brancaccio V, Minno di G. The methylenetetrahydrofolate reductase TT677 genotype is associated with venous thrombosis independently of the existence of factor V Leiden and the prothrombin A20210 mutation. *Thromb Haemost* 1998; 79: 907-911.
- 110) Markus H, Ali N, Swaminathan R, Powell J. MTHFR-C677T polymorphism, homocysteine and cerebrovascular disease. *Cerebrovasc Dis* 1996; 6: 19.

- 111) Marz W; Nauck M; Wieland H. The molecular mechanisms of inherited thrombophilia. *Z Kardiol* 2000; 89: 575-86.
- 112) McDonagh J, Carell N. Disorders of fibrinogen structure and function. In: Colman RW, Hirsh J, Marder J, Salzman EW. *Haemostasis and Thrombosis. Basic principles and Therapy*, 2<sup>nd</sup> ed: Lippincott Philadelphia 1987; p 301.6.
- 113) McKee PA, Mattock P, Hill RL. Subunit structure of human fibrinogen, soluble fibrin and cross-linked insoluble fibrin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1970; 66: 738-744.
- 114) Meisel C, Cascorbi I, Gerloff T, Stangl V, Laule M, Muller JM, Wernecke KD, Baumann G, Roots I, Stangl K. Identification of six methylenetetrahydrofolat reductase (MTHFR) genotypes resulting from common polymorphisms: impact on plasma homocysteine levels and development of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2000; 154(3): 651-658.
- 115) Merrill JP, Murray JE, Guild WR. Successful homotransplantation of the human kidney between identical twins. *JAMA* 1956; 160: 277.
- 116) Mudd SH, Levy HL. Disorders of transulfuration. In: Stanbury JC, Wyngarden JB, Frederickson DS, Goldstein JL, Brown MS (eds). *The metabolic basis of inherited disease*. McGraw Hill, New York 1983; pp 522-539.
- 117) Mullertz S, Clemmensen I. The primary inhibitor of plasmin in human plasma. *Biochem J (England)* 1976; 159: 545-553.

118) Murray JE, Merrill JP, Harrison JH. Kidney transplantation between seven pairs of identical twins. *Ann Surg* 1958; 148: 343.

119) Nakata Y, Katsuya T, Takami S, Sato N, Fu Y, Ishikawa K, Takiuchi S, Rakugi H, Miki T, Higaki J, Ogihara T. Methylenetrahydrofolate reductase gene polymorphism. Relation to blood pressure and cerebrovascular disease. *Am J Hypertens* 1998; 11: 1019-1023.

120) Nowak-Göttl U, Vielhaber H, Auberberger K, Göbel U, Kreuz W, Schneppenheim R, Zenz W, Zieger B. Inherited defects of the protein C anticoagulant system in childhood thromboembolism. *Eur J Pediatr* 1996; 155: 921-927.

121) Nowak-Göttl U, Koch HG, Ashka I, Kohlhase B, Vielhaber H, Kurlemann G, Oleszuk-Raschke K, Kehl HG, Jürgens H, Schneppenheim R. Resistance to activated protein C (APC) in children with venous or arterial thromboembolism. *Brit J Haematol* 1996; 92: 992-996.

122) Nowak-Göttl U, Debus O, Findeisen M, Kassenböhmer R, Koch HG, Pollmann H, Postler C, Weber P, Vielhaber H. Lipoprotein (a): Its Role in Childhood Thrombo-embolism. *Pediatr* 1997 Vol99 No.6.

123) Oh J, Schaefer F, Veldmann A, Nowak G, Nowak-Göttl U, Tonshoff B, Kreuz W. Heterozygous prothrombin gene mutation: a new risk factor for early renal allograft thrombosis. *Transplantation* 1999; 68 (4): 575-578.

124) Ohlin A-K, Marlar RA. Mutations in the thrombomodulin gene associated with thromboembolic disease. *Thromb Haemost* 1995; 73: 1096.



125) Olsen TS. Pathology of allograft rejection. In: *Kidney Transplant Rejection*, edited by Burdick JF, Racusen LC, Solez K, Williams GM, New York, Marcel Dekker, 1992; pp 333-357.

118) Olszewski AJ, Mc Cully KS. Homocysteine metabolism and the oxidative modifications of proteins and lipids. *Free Radic Biol Med* 1993; 14: 683-693.

126) Payne DA, Chamoun AJ, Seifert SL, Stouffer GA. MTHFR 677 C→T mutation: a predictor of early-onset coronary artery disease risk. *Thromb Res* 2001; 103(4): 275-279.

127) Penny MJ, Nankivell BJ, Disney APS, Byth K, Chapman JR. Renal graft thrombosis. *Transplantation* 1994; 58(5): 565-569.

128) Pethig K, Hoffmann A, Heublein B, Timke A, Gross G, Haverich A. Cardiac allograft vascular disease after orthotopic heart transplantation: methylenetetrahydrofolat reductase gene polymorphism C677T does not account for rapidly progressive forms. *Transplantation* 2000; 69(3); 442-445.

129) Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996; 88: 3698-3703.

130) RabelinkTJ, Zwaginga JJ, Koomans HA, Sixma JJ. Thrombosis and haemostasis in renal disease. *Kidney Int* 1994; 44: 411-422.

131) Rees DC, Cox M, Clegg JB. World distribution of Faktor V Leiden. *Lancet* 1995; 346; 1133-1134.

- 132) Reitsma PH, Bernnadi F, Doig RG, Gandrille S, Greengard JS, Ireland H, Krawzak M, Lind B, Long GL, Poort SR, Saito H, Sala N, Witt I, Cooper DN. Protein C deficiency: a database of mutations, 1995 update. *Thromb Haemost* 73: 876-879.
- 133) Ridker PM, Hennekens CH, Selhub J, Miletich JP, Malinow MR, Stampfer MJ. Interrelation of hyperhomocyst(e)inemia, Factor V Leiden and risk of future venous thrombembolism. *Circulation* 1997; 95(7): 1777-1782.
- 134) Rodger GM, Conn MT. Homocysteine, an atherogenic stimulus reduces protein C activation by arterial and venous endothelial cells. *Blood* 1990; 75: 895-901.
- 135) Rodger GM, Kante WH. Activation of endogenous factor V by a homocysteine-induced vascular endothelial cell activator. *J Clin Invest* 1986; 97: 1370-1376.
- 136) Salomon D, Strom TB. Diagnosis and treatment of rejection. In: Garovoy MR, Guttman RD (eds). *Renal transplantation*. Churchill-Livingstone New York 1986; chap 6, pp 125-156.
- 137) Santori MT, Patrassi GM, Theodoridis P, Perin A, Pielrogande F. Heterozygous type I plasminogen deficiency is associated with an increase risk for thrombosis: a statistic analysis in 20 kindreds. *Blood Coag Fibrinolysis* 1994; 5: 889-893.

- 138) Schnuelle P, Lorenz D, Trede M, Van Der Woude FJ. Impact of renal cadaveric transplantation on survival in end-stage renal failure: evidence for reduced mortality risk compared with hemodialysis during long-term follow-up. *J Am Soc Nephrol* 1998 Nov;9(11): 2135-41.
- 139) Schulz W. Pathophysiologie und Klinik der renalen Osteopathie. In: Losse H (Hrsg). *Klinische Nephrologie*. Georg-Thieme-Verlag Stuttgart New York 1977; Bd1: 432-438.
- 140) Shen L, Dahlbäck B. Factor V and protein C in degradation of factor VIIIa. *J Biol Chem* 1994; 269: 18735-18738.
- 141) Seegers WH, Novoa E, Henry RL, Hassouna HI. Relationship of „new“ vitamin-K-dependent protein C and „old autoproteolytic protein C“. *Thromb Res* 1976; 8: 543-552.
- 142) Slama H; Fisch HU; Frey FJ. Quantitative Erfassung der Lebensqualität bei Patienten mit einer Nierenersatztherapie. *Schweiz Rundsch Med Prax* 1993 Nov 2;82(44):1253-62.
- 143) Sprengers ED, Kluft C. Plasminogen activator inhibitors. *Blood* 1987; 69: 381-387.
- 144) Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H. International standardization criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: The Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int* 1993; 44: 411-422

- 145) Souto JC, Gari M, Mateo J, Falkon L, Borell M, Fontcuberta J. Congenital histidine rich glykoprotein deficiency and familial thrombophilia: a new case. *Thromb Haemost* 1995; 73: 952.
- 146) Stabler SP, Marcell PD, Podell ER, Allen RH. Quantitation of homocysteine, total cysteine and methionine in normal serum and urine using capillary gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Biochem* 1987; 162: 185-196.
- 147) Stabler SP, Marcell PD, Podell ER, Allen RH, Savage DG, Lindenbaum J. Elevation of total homocysteine in serum of patients with cobalamin or folate deficiency detected by capillary gas chromatography- mass spectrometry. *J Clin Invest* 1988; 81: 446-474.
- 148) Stenflo J. A new Vitamin-K-dependent protein. Purification from bovine plasma and preliminary characterization. *J Biol Chem* 1976; 251: 355-363.
- 149) Stevenson RE, Schwartz CE, Du YZ; Adams MJ Jr. Differences in methylenetetrahydrofolate reductase genotype frequencies between whites and blacks. *Am J Hum Genet* 1997; 60: 229-230.
- 150) Stryer, Lubert. *Biochemie*. Spektrum Akad. Verlag GmbH Heidelberg Berlin Oxford 1996; 126.
- 151) Tait RC, Walker ID, Islam SIA, Mitchell R, Davidson JF. Plasminogen levels and putative prevalence of deficiency in 4500 blood donors. *Br J Haematol* 1991; 77 (S1):10.

- 152) Thaler E, Lechner K. Antithrombin III deficiency and thromboembolism. *Clin Haematol* 1981; 10: 369-390.
- 153) Thomas FT, Lee HM. Factors in the differential rate of arteriosclerosis (AS) between long surviving renal transplant recipients and dialysis patients. *Ann Surg* 1976 Sep;184(3): 342-51.
- 154) Tosetto A, Missiaglia E, Frezzato M, Rodeghiero F. The VITA project: C677T mutation in the methylenetetrahydrofolat reductase gene and risk of venous thromboembolism. *Brit J Haemost* 1997; 97: 804-806.
- 155) Thuillier L, Chadeaux-Vekemans B, Bonnefort JP, Kara A, Aupetit J, Rochette C, Montalescot G, Couty MC, Kamoun P, Ankri A. Does the polymorphism 677C→T of the 5,10-methylenetetrahydrofolat reductase gene contribute to homocysteine-related vascular disease? *J Inherit Metab Dis* 1998; 21(8): 812-822.
- 156) Tsai JC, Perrella MA, Yoshizumi M. Promotion of a vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 6369-6373.
- 157) Tsai JC, Wang H, Perrella MA. Induction of a cyclin A gene expression by homo-cysteine in vascular endothelial cell activator. *J Clin Invest* 1986; 97: 146-153.
- 158) Ubbink JB, Vermaak WJH, Delpont R, van der Merwe A, Becker PJ, Potgieter HC. Effective homocysteine metabolism may protect South African blacks against coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 802-808.

- 159) Ubbink JB, Vermaak WJH, van der Merwe A, Becker PJ, Delport R, Potgieter HC. Vitamin requirements for the treatment of homocysteinemia in humans. *J Nutr* 1994; 124: 1927-1933.
- 160) Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Malinow MR, Andersson A, Allen RH. Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. *Clin Chem* 1993; 39: 1764-1779.
- 161) Ullmann E. Experimentelle Nierentransplantation. Vorläufige Mitteilung. *Klin Wochenschr Wien* 1902; 15 (11): 281.
- 162) Vanrenterghem Y, Roels L, Lerut T, Gruwez J, Michiels P, Gesele P, Deckmyn H, Colucci M, Arnout J, Vermylen J. Thromboembolic complications and haemostatic changes in cyclosporine-treated cadaveric kidney allograft recipients. *Lancet* 1985; 1: 999-1002.
- 163) Verhoeff BJ, Trip MD, Prins MH, Kastelein JJ, Reitsma PH. The effect of a common methylenetetrahydrofolate reductase mutation on levels of homocysteine, folate vitamin B12 and on the risk of premature atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1998; 141(1): 161-166.
- 164) Volcik KA, Blanton SH, Tyerman GH, Jong ST, Rott EJ, Page TZ, Romaine NK, Northrup H. Methylenetetrahydrofolate reductase and spina bifida: evaluation of level of defect and maternal genotypic risk in hispanics. *Am J Med Genet* 2000 Nov 6;95(1): 21-7.

165) Waiser J, Budde K, Schreiber M, Peibst O, Koch U, Bohler T, Hoffken B, Hauser I, Neumayer HH. The quality of life in end stage renal disease care. *Transpl Int* 1998;11 Suppl 1:S42-5.

166) Walker FJ, Sexton PW, Esmon CT. The inhibition of blood coagulation by activated protein C through the selective inactivation of activated factor V. *Biochem Biophys Acta* 1979; 571:333-342.

167) Walker FJ. Regulation of protein C by a new protein: a possible function for bovine protein S. *J Biol Chem* 1980; 255: 5521-5524.

168) Walker FJ. Regulation of protein C by protein S: the role of phospholipid in factor Va inactivation. *J Biol Chem* 1981; 256: 11128-11131.

169) Weiss C, Jelkmann W. Funktionen des Blutes. In: Schmidt RF, Thews G (Hrsg.). *Physiologie des Menschen*; 24. Aufl, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York 1990; S. 439-447.

170) Whitehead AS, Gallagher P, Mills JL, Kirke PN, Burke H, Molloy AM, Shields DC, Scott JM. A genetic defect in 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase in neural tube defects. *QJM* 1995; 88: 763-765.

171) Williams WJ, Norris DG. Purification of a bovine plasma protein (factor VII) which is required for the activity of lung microsomes in blood coagulation. *J Biol Chem* 1966; 241: 1847-1856.

172) Wing AJ, Brunner FP, Brynger H, Chandler C, Donckerwolke RA, Gurland HJ, Hathway RA, Jacobs C, Selwood NH. Combined report on regular dialysis and transplantation in Europe. Proc Europ Dial Transpl Ass; 15: 1-2.

173) Wüthrich RP. Nierentransplantation: Grundlagen, Vor- und Nachsorge, Langzeit-überwachung. Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York 1995; S129-178.

174) Wüthrich RP, Cicvara-Muzar S, Booy C, Maly FE. Heterozygosity for the factor V Leiden (G1691A) mutation predisposes renal transplant recipients to thrombotic complications and graft loss. Transplantation 2001; 72 (3): 549-550.

175) Zittoun J, Tonetti C, Bories D, Pignon JM, Tulliez M. Plasma homocysteine levels related to interactions between folate status and methylenetetrahydrofolate reductase: a study in 52 healthy subjects. Metabolism 1998; 47(11): 1413-1418.

176) Zoller B, Garcia de Frutos P, Hillarp A, Dahlbäck B. Thrombophilia as a multigenic disease. Haematologica 1999; 84: 59-70.

177) Zur M, Radcliff RD, Oberdick J, Nemerson Y. The dual role of factor VII in blood coagulation. Initiation and inhibition of proteolytic system by a zymogen. J Biol Chem 1982; 257: 5632-5633.



## **VI. DANKSAGUNG**

Frau Prof. Dr. med. Nowak-Göttl und Herrn Prof. Dr. med. Heidenreich danke ich für die Bereitstellung dieses interessanten Themas.

Frau Prof. Dr. med. Nowak-Göttl danke ich für die gute Betreuung während des Schreibens dieser Arbeit.

Ebenso möchte ich mich beim Pflorgeteam und den Ärzten der Chirurgischen Poliklinik, der Station 9 der Chirurgischen Klinik und den Stationen 13A und 13B der Medizinischen Klinik D für die gute Zusammenarbeit während der Probengewinnung bedanken.

Petra Nabel danke ich für die engagierte Einarbeitung in die PCR.

Meinem Bruder Ingo Hessing und Bastian Ginger Claassen danke ich für die Hilfe bei der visuellen Gestaltung der Arbeit.

Bei meinen Eltern Agnes und Egon Hessing möchte ich mich für die langjährige emotionale und finanzielle Unterstützung während meines Studiums bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Karsten Kühne für seine Rücksicht, produktive Kritik und technische Hilfestellung.

**VII. CURRICULUM VITAE**

**Name:** Sabine Hessing

**Geburtsdatum:** 09.05.1976

**Geburtsort:** Ahaus

**Familienstand:** ledig

**Eltern:** Egon Hessing (Kommunalbeamter)

Agnes Hessing, geb. Osterholt (Kinderpflegerin)

**Geschwister:** Anja Lübke (geb. Hessing), geb. 1970, (Dipl.-Sozialpädagogin)

Ingo Hessing, geb. 1974, (Online-/Offline-Designer)

**Schulbildung:** 1982-1986 Alexander-Hegius-Grundschule Heek

1986-1995 Canisiusgymnasium Ahaus

1995 Abitur

**Studium:** 1995-2002 Studium der Humanmedizin an der Westfälischen  
Wilhelms-Universität Münster

**Examina:** 1997 Ärztliche Vorprüfung

1998 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

2000 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

2002 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

**Teilapprobation:** 08. Mai 2002

**Ärztin im Praktikum:** - vom 01.06. bis zum 30.11.2002 in der Inneren  
Medizin im Klinikum Rosenhöhe, Städtische  
Kliniken Bielefeld

- ab dem 01.12.2002 in der Inneren Medizin im  
Marienhospital Oelde