

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Klinik und Poliklinik für Innere Medizin D  
-Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. H. Pavenstädt-

**Freie Leichtketten in Serum und Urin bei chronischer  
Niereninsuffizienz und nach Nierentransplantation**

Inaugural-Dissertation  
zur  
Erlangung des doctor medicinae  
der Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen-Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von  
Kreuzer, Stefanie Hanna  
aus Heidelberg  
2006

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. V.Arolt

1. Berichterstatter: PD Dr. med. Detlef Lang

2. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. rer.nat. Walter H. Hörl

Tag der mündlichen Prüfung: 19.12.2006

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Klinik und Poliklinik für Innere Medizin D  
-Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. H. Pavenstädt-  
Referent: PD Dr. med. Detlef Lang  
Koreferent: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Walter H. Hörl

**Zusammenfassung:**

Freie Leichtketten in Serum und Urin bei chronischer Niereninsuffizienz und  
nach Nierentransplantation  
Stefanie Hanna Kreußner

Urämietoxine werden für eine Vielzahl der Komplikationen bei chronischer Niereninsuffizienz wie beschleunigte Arteriosklerose oder Dysregulation des Immunsystems verantwortlich gemacht. Diese sind häufige Todesursachen bei chronischer Niereninsuffizienz. Freie Immunglobulinleichtketten zählen zu den Urämietoxinen und hemmen essentielle Funktionen der unspezifischen Immunantwort. In der vorliegenden Arbeit wurden die Auswirkungen von Nierenfunktion, Proteinurie und immunsuppressiver Therapie auf die Serumkonzentrationen und Urinausscheidung freier  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten bei 100 Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen vor Dialysepflichtigkeit, 150 Nierentransplantierten und Gesunden untersucht. Ein neuer Assay zur Detektion freier Leichtketten im Urin wurde in der vorliegenden Arbeit etabliert. Eine Einschränkung der Nierenfunktion führt bei chronisch Niereninsuffizienten zu einer tendenziellen Erhöhung der Leichtketten-Serumkonzentrationen; bei Patienten nach Nierentransplantation zu einem signifikanten Anstieg ab einer Serum-Kreatinin-Konzentration von 2,5 mg/dl. Die Urinexkretion freier Leichtketten war bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz signifikant gegenüber den Nierentransplantierten und den Kontrollen erhöht. Bei allen Patienten korrelierte sie mit Serum-Kreatinin und Kreatinin-Clearance. Der Grad der Proteinurie hatte auf die Leichtketten-Serumkonzentrationen der chronisch Niereninsuffizienten keine Auswirkungen. Im Urin dieser Patienten und in Serum und Urin der Nierentransplantierten zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Leichtketten-Konzentrationen ab einer Proteinurie von 1 g/24h. Die immunsuppressive Therapie führt sowohl bei chronisch Niereninsuffizienten als auch bei nierentransplantierten Patienten zu einer signifikant verminderten Ausscheidung von freien Leichtketten bei gleich bleibenden Serumkonzentrationen. Eine Differenzierung der Proteinurie ergab keinen Zusammenhang mit der Leichtkettenausscheidung. Zusätzliche Mechanismen müssen daher eine Rolle bei der Modulation der Serumspiegel freier Immunglobulinleichtketten bei diesen Patienten spielen. Renale Mechanismen wie z. B. verminderte Resorption und Katabolismus freier Leichtketten durch proximale Tubulusepithelzellen erscheinen möglich und würde die erhöhten Konzentrationen im Urin erklären. Zukünftige Studien müssen die klinische Bedeutung der freien Immunglobulinleichtketten bei niereninsuffizienten Patienten weiter untersuchen.

Tag der mündlichen Prüfung: 19.12.2006

*Meinen Eltern*

## INHALTSVERZEICHNIS

Inhaltsverzeichnis.....	1
Abbildungsverzeichnis.....	4
Tabellenverzeichnis.....	6
Veröffentlichungen.....	7
Abkürzungsverzeichnis.....	8
<b>1. Einleitung</b> .....	11
1.1 Überblick.....	11
1.2 Ziele der vorliegenden Studie.....	19
1.2.1 Freie Immunglobulinleichtketten im Serum.....	19
1.2.2 Etablierung der Bestimmung freier Immunglobulinleichtketten im Urin.....	19
1.2.3 Freie Immunglobulinleichtketten im Urin.....	19
1.2.4 Bestimmung zusätzlicher Einflußgrößen.....	20
<b>2. Patienten</b> .....	21
2.1 Kontrollgruppe.....	21
2.2 Patienten.....	21
<b>3. Methoden</b> .....	24
3.1 Routinelabor.....	24
3.2 Leichtkettennachweis im Serum.....	25
3.2.1 Prinzip des Verfahrens.....	25
3.2.2 Analyse.....	26
3.3 Leichtkettennachweis im Urin.....	28
3.3.1 Prinzip des Verfahrens.....	28
3.3.2 Analyse.....	29
3.4 Differenzierung der Proteinurie.....	31
3.5 Berechnung der Kreatinin-Clearance.....	32
3.6 Statistik.....	32

---

<b>4. Ergebnisse</b> .....	32
4.1 Kontrollgruppe.....	32
4.1.1 Serum.....	32
4.1.2 Urin.....	32
4.2 Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen.....	33
4.2.1 Serum.....	33
4.2.2 Urin.....	34
4.2.3 Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen und verschiedenen Graden beeinträchtigtger Nierenfunktion.....	35
4.2.4 Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen und verschiedenen Graden von Proteinurie.....	37
4.2.5 Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen und normalem Serum-Kreatinin: mit und ohne Proteinurie.....	39
4.2.6 Korrelationen.....	40
4.2.6.1 Korrelationen mit Geschlecht, Alter und Gewicht.....	40
4.2.6.2 Korrelationen mit Serum-Kreatinin und Kreatinin-Clearance.....	40
4.2.6.3 Korrelationen mit der Proteinurie.....	45
4.2.6.4 Korrelationen mit der Grunddiagnose.....	47
4.2.6.5 Korrelationen zwischen Serum- und Urinkonzentrationen der freien Immun- globulinleichtketten.....	47
4.2.6.6 Korrelationen der freien Immunglobulinleichtketten zueinander in Serum und Urin.....	47
4.3 Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen und Immunsuppression.....	49
4.4 Nierentransplantierte Patienten.....	51
4.4.1 Serum.....	51
4.4.2 Urin.....	52
4.4.3 NTx-Patienten mit normaler Nierenfunktion.....	54
4.4.4 NTx-Patienten mit verschiedenen Graden eingeschränkter Nierenfunktion.....	55
4.4.5 NTx-Patienten mit verschiedenen Graden von Proteinurie.....	57
4.4.6 NTx-Patienten mit normalem Serum-Kreatinin: mit und ohne Proteinurie.....	59
4.4.7 Korrelationen.....	60

---

4.4.7.1 Korrelationen mit Geschlecht, Alter und Gewicht.....	60
4.4.7.2 Korrelationen mit Serum-Kreatinin und Kreatinin-Clearance.....	60
4.4.7.3 Korrelationen mit der Proteinurie.....	65
4.4.7.4 Korrelationen zwischen Serum- und Urinkonzentrationen der freien Immunglobulinleichtketten.....	66
4.4.7.5 Korrelationen der freien Immunglobulinleichtketten zueinander in Serum und Urin.....	66
4.5 Beurteilung nach differenzierter Proteinurie.....	68
5. Diskussion.....	70
5.1 Methoden.....	70
5.2 Freie Immunglobulinleichtketten im Serum.....	72
5.3 $\lambda$ - und $\kappa$ -Mono- und Dimere.....	74
5.4 Freie Immunglobulinleichtketten im Urin.....	75
5.5 Einfluss der Nierenfunktion.....	77
5.6 Einfluss der Proteinurie.....	78
5.7 Einfluss der Immunsuppression.....	79
5.8 Klinische Bedeutung.....	81
6. Zusammenfassung.....	82
7. Literatur.....	83
Danksagung.....	94
Lebenslauf.....	96
Anhang:	
Reagenzien	
Materialien	
Software	
Puffer/Lösungen	
Patientendaten	



---

## **ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

Abbildung 1.....	11
Abbildung 2.....	26
Abbildung 3.....	29
Abbildung 4a.....	35
Abbildung 4b.....	36
Abbildung 5a.....	37
Abbildung 5b.....	38
Abbildung 6.....	39
Abbildung 7a.....	41
Abbildung 7b.....	41
Abbildung 8a.....	41
Abbildung 8b.....	42
Abbildung 9a.....	43
Abbildung 9b.....	43
Abbildung 10a.....	44
Abbildung 10b.....	44
Abbildung 11a.....	45
Abbildung 11b.....	46
Abbildung 11c.....	46
Abbildung 11d.....	47
Abbildung 12.....	48
Abbildung 13a.....	52
Abbildung 13b.....	53
Abbildung 14.....	54
Abbildung 15a.....	55
Abbildung 15b.....	56
Abbildung 16a.....	57

---

Abbildung 16b.....	58
Abbildung 17.....	59
Abbildung 18a.....	60
Abbildung 18b.....	61
Abbildung 19a.....	61
Abbildung 19b.....	62
Abbildung 20a.....	62
Abbildung 20b.....	63
Abbildung 21a.....	63
Abbildung 21b.....	64
Abbildung 22a.....	65
Abbildung 22b.....	66
Abbildung 23a.....	67
Abbildung 23b.....	67

---

## **TABELLENVERZEICHNIS**

Tabelle 1.....	12
Tabelle 2.....	13
Tabelle 3.....	26
Tabelle 4.....	33
Tabelle 5.....	34
Tabelle 6.....	50
Tabelle 7.....	50
Tabelle 8.....	68
Tabelle 9.....	69

Teile der Arbeit sind auf folgenden Kongressen vorgestellt worden:

1) 39<sup>th</sup> Meeting of the European Renal Association and European Dialysis and Transplant Association, 14. - 17.07.2002, Kopenhagen, Dänemark:

„Free Light Chains in Patients with Chronic Kidney Diseases and Renal Transplant Recipients“

Stefanie Kreusser, Gerald Cohen, Sabine Schmaldienst, Walter H. Hörl

(Poster)

2) 33. Kongress der Gesellschaft für Nephrologie, 35. Arbeitstagung der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Klinische Nephrologie, 28.09. - 01.10.2002, Düsseldorf:

„Freie Immunglobulinleichtketten bei chronischen Nierenerkrankungen und nach Nierentransplantation“

Stefanie Kreusser, Gerald Cohen, Sabine Schmaldienst, Walter H. Hörl

(Poster)

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

ANV	Akutes Nierenversagen
AS	Aminosäuren
bzw.	beziehungsweise
ca.	zirka
CAPD	kontinuierliche ambulante Peritonealdialyse
chron.	chronisch
CNE	Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen
CyA	Cyclosporin A
diabet.	diabetisch
DM	Diabetes mellitus
et al.	et alii
f	weiblich
FSGS	fokale segmentale Glomerulosklerose
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GIP 1	Granulocyte Inhibiting Protein 1
GN	Glomerulonephritis
HD	Hämodialyse
HWI	Harnwegsinfekt
Ig	Immunglobulin(e)
IST	immunsuppressive Therapie
Konz.	Konzentration(en)
Krea	Serum-Kreatinin in mg/dl
LCDD	Leichtkettenablagerungskrankheit

---

M.	Morbus
m	männlich
MCGN	minimal-change-Glomerulonephritis
MDRD	“Modification of Diet in Renal Disease”-Studie
Membrano.	membranoproliferativ
MW	Mittelwert
n	Anzahl der Patienten pro Gruppe
nd	nicht detektierbar
NS	nicht signifikant
NTx	Nierentransplantation
Pat.	Patient
PBS	Phosphate Buffered Saline
Pred	Prednisolon-Dosierung in mg
Prim.	primär
RPGN	rapid progrediente Glomerulonephritis
Rpm	Rounds per Minute
s.	siehe
S.	Seite
SD	Standardabweichung
SDS-PAGE	Sodium-Dodecyl-Sulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese
SEM	Standardabweichung der Mittelwerte
SLE	systemischer Lupus erythematoses
sog.	so genannt
s.o.	siehe oben

---

TBC	Tuberkulose
TBS	Tris Buffered Saline
TBS-T	Tris Buffered Saline mit Tween
usw.	und so weiter
u.a.	unter anderem
v.a.	vor allem
vs.	versus
vgl.	vergleiche
z.B.	zum Beispiel
Z.n.	Zustand nach
24h	24 Stunden

## 1. EINLEITUNG

### 1.1 Überblick

Immunglobuline (Ig) bestehen aus einem jeweils identischen Paar leichter und schwerer Ketten, die durch Disulfidbrücken miteinander verbunden sind (s. Abb. 1). Die schweren Ketten mit einem Molekulargewicht von 50 bis 70 kDa und einer Aminosäuresequenz von 44-550 Aminosäuren (AS) existieren in verschiedenen Untertypen und bestimmen die Immunglobulin-Klasse:  $\alpha$  für IgA,  $\delta$  für IgD,  $\epsilon$  für IgE,  $\gamma$  für IgG und  $\mu$  für IgM. Diese sind entweder mit  $\kappa$ - oder mit  $\lambda$ -Leichtketten assoziiert. Immunglobulinleichtketten haben als Monomere ein Molekulargewicht von ca. 25 kDa, als Dimere entsprechend ein Molekulargewicht von ca. 50 kDa. Sie bestehen aus ca. 210 AS. Ihr carboxyterminales Ende ist konstant. Das aminoternale Ende ist variabel und dient mit dem Äquivalent der schweren Ketten der Antigenbindung [70, 78].

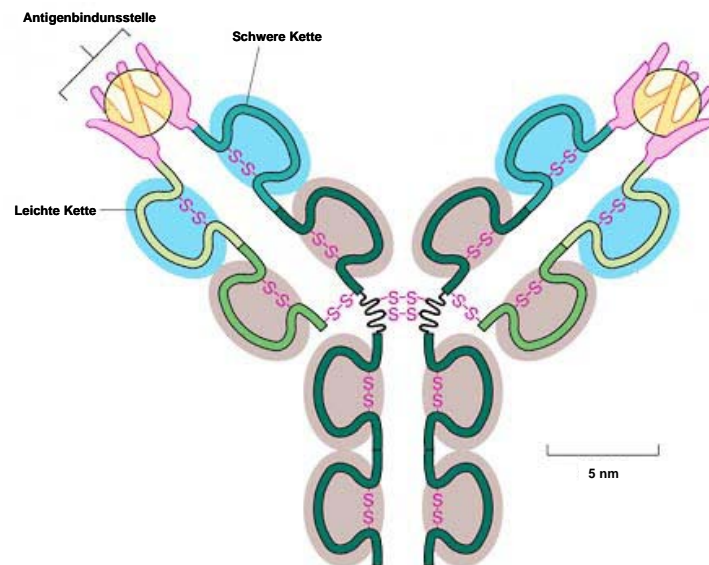


Abb. 1: Schematischer Aufbau von Immunglobulinen (nach Alberts et al.: *Molecular Biology of the Cell*, Garland Science 1998).

Innerhalb einer Kette sind die Disulfidbrücken für die Bildung der dreidimensionalen Strukturen und damit der so genannten Domänen verantwortlich. Die schweren Ketten beinhalten je nach Klasse vier bis fünf Domänen, die Leichtketten zwei. An den



Domänen findet die Antigenbindung statt, die durch Rekombination der variablen Anteile die Spezifität für Millionen verschiedener Antigenen gewährleistet [16, 18, 58, 83].

Leichtketten existieren nicht nur als Teile von Immunglobulinen, sondern auch in freier Form. Sie können in Form monoklonaler Bence-Jones-Proteine [7] in Serum und Urin erscheinen. Letztere werden von einem Klon entarteter Plasmazellen produziert und sind ein wichtiges diagnostisches Kriterium von Plasmazelldysplasien. Polyklonale freie Leichtketten liegen jedoch auch in Serum und Urin von Gesunden vor [77, 90]. Sie stammen aus der „de-novo“-Synthese von Plasmazellen und nicht aus dem Abbau kompletter Immunglobuline [45, 46, 82, 88]. Freie Immunglobulinleichtketten können als Mono-, Di- und Polymere vorliegen [45, 46, 90]. Dimere können kovalent verknüpft und damit stabil oder nicht kovalent verknüpft und daher dissozierbar sein.  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten sind meist kovalent zu Dimeren verbunden.  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten liegen überwiegend in Monomerform vor.  $\kappa$ -Dimere sind zu gleichen Teilen kovalent und nicht kovalent verknüpft [8, 40]. Die Immunglobulinproduktion findet in der Plasmazelle statt. Dabei werden leichte und schwere Ketten an Polyribosomen synthetisiert und im endoplasmatischen Retikulum aneinander gekoppelt. Es wird ein geringer Überschuss an leichten Ketten produziert, so dass ein intrazellulärer Pool freier Leichtketten entsteht [2, 88]. Vermutlich werden diese parallel zu kompletten Immunglobulinen sezerniert [48].

Im Serum von Gesunden finden sich folgende Konzentrationen freier Immunglobulinleichtketten:

	$\kappa$ -Serum (MW $\pm$ SD) mg/l	$\lambda$ -Serum (MW $\pm$ SD) mg/l	$\kappa/\lambda$
Solling [90]	11 $\pm$ 3	8 $\pm$ 1	1,38
Wakasugi et al.[106]	7 $\pm$ 4	5 $\pm$ 3	1,4
Wakasugi et al.[107]	34 $\pm$ 18	18 $\pm$ 12	1,89
Abe et al. [1]	16 $\pm$ 6	33 $\pm$ 5	0,5
Bradwell et al. [11]	8 $\pm$ 3	15 $\pm$ 4	1,67
Cohen et al. [21]	35 $\pm$ 18	31 $\pm$ 14	1,13

*Tabelle 1: Literaturüberblick über Konzentrationen freier Immunglobulinleichtketten im Serum von Gesunden.*

Leichtketten werden in der Niere metabolisiert [110]. Aufgrund ihres Molekulargewichtes von 25 kDa werden freie Immunglobulinleichtketten als Monomer glomerulär frei filtriert. Im Tubulus werden normalerweise 95% der filtrierten freien Immunglobulinleichtketten tubulär resorbiert [96]. Die Resorption erfolgt über Cubilin, einen Rezeptor der luminalen Plasmamembran, und anschließende Endozytose [3]. Intrazellulär erfolgt die Fusion mit Lysosomen, in denen die Leichtketten durch hydrolytische Enzyme in Aminosäuren aufgespalten und so dem Stoffwechsel wieder zugeführt werden. Die Clearance der freien Immunglobulinleichtketten wird auf ca. fünf bis zehn Prozent der GFR (glomeruläre Filtrationsrate) geschätzt. Das Polymerisationsverhalten ist für die Clearance der freien Leichtketten entscheidend. Monomere werden fast doppelt so schnell eliminiert wie Dimere [92]. Da  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten hauptsächlich als Monomere vorliegen und sie somit im Vergleich zu  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten rascher ausgeschieden werden können, ergibt sich ein im Gegensatz zu Immunglobulinen erniedrigtes  $\kappa/\lambda$ -Verhältnis der freien Leichtketten im Serum. McKelvey et al. fanden 1965 für komplette Immunglobuline ein  $\kappa/\lambda$ -Verhältnis von 1,86 [68].

Im Urin von Gesunden finden sich folgende Konzentrationen von freien Immunglobulinleichtketten:

	$\kappa$ -Urin (MW $\pm$ SD) mg/24h	$\lambda$ -Urin (MW $\pm$ SD) mg/24h	$\kappa/\lambda$
Waldmann, Strober [108]	-	2,3 $\pm$ 1,1	-
Abe et al. [1]	2,9 $\pm$ 1,8	1,1 $\pm$ 0,7	3,0
Solling et al. [93]	3,2 $\pm$ 1,2	1,1 $\pm$ 0,6	2,9
Bradwell et al. [11]	5,4 $\pm$ 4,95	3,17 $\pm$ 3,3	1,85

*Tabelle 2: Literaturüberblick über Konzentrationen freier Immunglobulinleichtketten im Urin von Gesunden.*

Eine massive Exkretion von monoklonalen oder polyklonalen Leichtketten im Urin kann bei einem multiplem Myelom, einer AL-Amyloidose, einem Morbus Waldenström, einem malignem Lymphom und bei chronisch lymphatischer Leukämie vorliegen. Neben der bekannten Funktion freier Immunglobulinleichtketten in der Antigen-Bindung gibt es Hinweise auf eine Protease-Aktivität [97] und die Fähigkeit, das Komplementsystem zu aktivieren [72]. In jüngster Zeit wurde eine neue Bedeutung

freier Leichtketten entdeckt: Sie lösen mastzellvermittelte Hypersensitivität aus und könnten somit eine Rolle bei T-Zell-vermittelten Autoimmunerkrankungen spielen [85]. Bei einigen dieser Erkrankungen gibt es Hinweise auf veränderte Leichtketten-Konzentrationen im Serum, Liquor oder Urin: Systemischer Lupus erythematoses [51, 98], multiple Sklerose [71], HIV [32], rheumatoide Arthritis [26], virale und bakterielle Meningitis [34].

In der Pathogenese renaler und systemischer Erkrankungen spielen freie Leichtketten bei folgenden Entitäten eine Rolle:

- a) Myelomniere
- b) Light Chain Deposition Disease
- c) AL-Amyloidose
- d) Tubuläre Funktionsstörungen
- e) Beta2-Mikroglobulin-Amyloidose
- f) Urämie

ad a) Myelomniere

Das multiple Myelom ist definiert durch eine maligne Proliferation von Plasmazellen im Knochenmark, die exzessiv monoklonale intakte Immunglobuline oder freie Leichtketten produzieren. Diese Mengen übersteigen die Resorptionskapazität des Tubulusapparates. Daher finden sich im Urin monoklonale Leichtketten, die so genannten Bence-Jones-Proteine (s.o.). Eine renale Beteiligung findet sich bei mehr als 50 % aller Patienten und führt zum nephrotischen Syndrom und zu chronischer Niereninsuffizienz. Bei ca. 30 % der Patienten mit einem multiplen Myelom kommt es zur Präzipitation von monoklonalen Leichtketten und Tamm-Horsfall-Protein zu intratubulären Zylindern. Bei letzterem handelt es sich um ein Glykoprotein aus dem aufsteigenden Teil der Henle-Schleife. Die Ablagerungen führen zu tubulärer Atrophie und Obstruktion im distalen Tubulus und den Sammelrohren bis hin zum akuten Nierenversagen. Die Tubulotoxizität scheint sich durch eine Resistenz der monoklonalen Leichtketten gegenüber den Proteasen der Tubuluslysosomen zu erklären [65]. Zusätzlich beeinträchtigen sekundäre Folgen der Grunderkrankung wie Hyperkalzämie, Hyperurikämie und iatrogene Maßnahmen die Nierenfunktion.

ad b) Light Chain Deposition Disease (Leichtketten-Ablagerungskrankheit)

Die Light Chain Deposition Disease (LCDD) ist eine Systemerkrankung, die durch die Ablagerung von Leichtkettenfragmenten in verschiedenen Organen, v.a. der Niere, charakterisiert ist [80, 84]. Ursache ist ebenfalls die exzessive Produktion monoklonaler Leichtketten, häufig im Rahmen einer lymphoproliferativen Erkrankung. Sie kann jedoch auch ohne jede erkennbare hämatologische Grunderkrankung auftreten (sog. Idiopathische LCDD) [80]. Die Leichtkettenfragmente stammen meist aus der konstanten Region der IgLk und lagern sich in granulärer Form im Extrazellulärraum ab. Sie sind besonders häufig in der Bowmankapsel und der tubulären Basalmembran zu finden [13, 49, 81]. Das führt sowohl zu glomerulären als auch tubulären Funktionsstörungen [41, 80].

ad c) AL-Amyloidose

Amyloidosen sind definiert durch die extrazelluläre Ablagerung von unlöslichen fibrillären Proteinen. Die primäre Amyloidose ist die Folge einer Fehlfunktion von Plasmazellen, bei der sich die Fibrillen von freien Leichtketten ableiten lassen. Dabei finden sich häufiger  $\lambda$ - als  $\kappa$ -Leichtketten [6]. Bestimmte Veränderungen von Aminosäuren scheinen zur Destabilisierung der Leichtketten und damit zur Präzipitation zu führen [5, 56]. Bei ca. 20 % der Patienten mit AL-Amyloidose ist ein multiples Myelom die Grunderkrankung [35, 43]. Der variable Anteil monoklonaler Leichtketten lagert sich an bestehende Fibrillen aus Serum Amyloid P, Glykosaminoglykanen und Apolipoproteinen an [5, 39, 60, 94]. Diese Amyloidablagerungen finden sich nicht nur in den Nieren (80-90 % der Patienten), sondern auch in Leber, Milz und Herz. Sie äußern sich klinisch u.a. durch Niereninsuffizienz, Hepatomegalie, Kardiomyopathie und Herzinsuffizienz, periphere Neuropathie [42]. Durch Ablagerung der Fibrillen in präglomerulären und glomerulären Kapillaren kommt es zur fortschreitenden Niereninsuffizienz. Die Fibrillenbildung im Interstitium und an der tubulären Basalmembran scheint eine untergeordnete Rolle zu spielen.

ad d) Tubuläre Funktionsstörungen

Vermehrte Leichtkettenexkretion kann auch zu tubulären Funktionsstörungen bei uneinträchtiger GFR wie z.B. dem Fanconi-Syndrom führen. Dabei lagern sich vor allem

$\kappa$ -Immunglobulinleichtketten in Kristallform im proximalen Tubulus ab. Klinisch kommt es zu renaler tubulärer Azidose und renalem Phosphatverlust. Das nephrotoxische Potential der Immunglobulinleichtketten hängt vermutlich mit ihren physikochemischen Eigenschaften zusammen [17, 27]. Der isoelektrische Punkt und der Isotyp der Leichtketten beeinflussen das Maß der Toxizität [17].

ad e)            Beta2-Mikroglobulin-Amyloidose

Die dialyseassoziierte Amyloidose stellt eine wichtige Langzeit-Komplikation in der Behandlung von Dialysepatienten dar. Beta2-Mikroglobulin gilt als Vorläufermolekül der dialysebedingten Amyloidose [31, 63, 87]. Es wird vermutet, dass an deren Entstehung zusätzliche Kofaktoren beteiligt sind. Brancaccio et al. fanden im Amyloidmaterial dieser Patienten polyklonale  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten und schlossen daraus, dass auch diese eine Rolle in der Ätiologie spielen [12]. Dieser Aspekt bedarf noch weiterer Untersuchungen.

ad f)            Urämie

Die Urämie bezeichnet die „Vergiftung“ mit harnpflichtigen Substanzen, die als Folge chronischer Niereninsuffizienz oder eines akuten Nierenversagens auftreten kann. Urämietoxine sind Substanzen, die im Serum urämischer Patienten in erhöhter Konzentration vorkommen und auf eine Vielfalt von Organsystemen eine schädliche Wirkung haben [10, 54, 102-104, 111]. Dazu gehören z.B. Retinol-binding Protein [25], Leptin [75] oder Homocystein [76]. Urämietoxine werden für eine Vielzahl der Komplikationen bei chronischer Niereninsuffizienz verantwortlich gemacht. Dazu gehören die Dysregulation des Immunsystems [22, 28, 44, 101] und die beschleunigte arterielle Kalzifikation [19, 55, 67]. Ein Ziel der Verbesserung gängiger Dialyseverfahren ist die vollständige Entfernung von Urämietoxinen. Der Anstieg dieser Stoffe im Serum kann durch eine gesteigerte Synthese oder eine verminderte renale Exkretion zustande kommen.

Auch freie Immunglobulinleichtketten akkumulieren im Serum von Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion:

1968 untersuchten Epstein et al. die Leichtkettenkonzentrationen in Serum und Urin vor und nach einer bilateralen Nephrektomie, in einer anephrischen Phase und nach Nieren-

transplantation (NTx) bei 14 Patienten [33]. Es fand sich ein Abfall der freien Leichtketten mit Beginn der Immunsuppression (Prednison und Azathioprin) und ein zeitgleich mit funktionellen Abstoßungsreaktionen stattfindender Anstieg der freien Immunglobulinleichtketten. Die Autoren postulierten die Möglichkeit, freie Immunglobulinleichtketten als renalen Parameter und prognostischen und diagnostischen Faktor der Nierentransplantation zu nutzen.

Fermin et al. bestimmten 1974 bei 16 NTx-Patienten die Clearance der  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten und fanden eine umgekehrte Proportionalität zum Serumkreatinin dieser Patienten [36]. Es wurde vermutet, dass sich dieser Zusammenhang aus einem gestörten renalem Metabolismus von niedermolekularen Proteinen in der Niereninsuffizienz ergibt.

Solling analysierte 1981 mit einem Radioimmunoassay nach chromatographischer Auftrennung die Leichtkettenkonzentrationen im Serum anephrischer Patienten und in Serum und Urin nephrotischer Patienten [93]. Die  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten-Serumkonzentrationen der anephrischen Patienten stiegen um das fünffache. Dagegen blieben die Serumspiegel der nephrotischen Patienten im Vergleich zur Kontrolle normal. Allerdings erhöhte sich die Ausscheidung im Urin um den Faktor fünf. Solling folgerte, dass die Resorption der Leichtketten bei einer solch massiven Proteinurie kompetitiv durch andere Proteine vermindert wird.

1991 bestimmten Wakasugi et al. nephelometrisch die Serumkonzentrationen von freien Immunglobulinleichtketten bei Hämodialyse (HD)-, Peritonealdialyse (CAPD)-Patienten und einer sehr geringen Zahl (n=5) an Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen ohne Dialysepflichtigkeit [106]. HD- und CAPD-Patienten fielen durch stark erhöhte  $\kappa$ - und vor allem  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen auf. Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen hatten gegenüber Gesunden leicht erhöhte Werte.

1990 beschrieben Hörl et al. ein aus Plasmaultrafiltrat isoliertes Protein (GIP 1) mit Sequenzhomologie zu freien Immunglobulinleichtketten, das Funktionen von polymorphkernigen Granulozyten hemmt [47, 53].

Cohen et al. wiesen 1995 nach, dass ebenfalls aus Plasmaultrafiltrat isolierte freie Immunglobulinleichtketten wichtige Granulozytenfunktionen wie Chemotaxis und Glukoseaufnahme hemmen und schlossen daraus, dass freie Leichtketten zur Verminderung

der Abwehrlage Niereninsuffizienter beitragen. Freie Immunglobulinleichtketten können somit zur Familie der Urämietoxine gezählt werden [21]. Dass freie Immunglobulinleichtketten auch die Apoptose neutrophiler Granulozyten und damit einen wichtigen Regulationsmechanismus des Immunsystems behindern, konnten Cohen et al. 2001 zeigen [23].

Cohen et al. beschrieben 2002 eine neue Methode zur Quantifizierung freier Leichtketten im Serum [24]. Gleichzeitig wurden die Konzentrationen im Blut von Dialysepatienten und wenigen Patienten (n=10) mit chronischen Nierenerkrankungen gemessen. So fanden sich für Dialysepatienten, wie auch Wakasugi [106] zeigen konnte, erhöhte  $\kappa$ - und stark erhöhte  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten-Werte sowie bei Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen erhöhte Konzentrationen gegenüber den Kontrollen.

## ***1.2 Ziele der vorliegenden Studie***

### **1.2.1 Freie Immunglobulinleichtketten im Serum**

Wie im ersten Teil der Einleitung erläutert, existieren in der Literatur keine Untersuchungen zu den Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen im Serum von Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen vor einer möglichen Dialysepflichtigkeit und Patienten nach Nierentransplantation in einer aussagekräftigen Zahl. Die bisherigen Arbeiten können allenfalls eine Tendenz aufzeigen. Eine Evaluation der Serumkonzentrationen von Immunglobulinleichtketten in solch einem Patientenkollektiv erscheint wichtig, um die Relevanz einer potentiellen Rolle als Urämietoxin zu belegen. Die vorliegende Studie hat zum Ziel, die Serumwerte von Patienten mit verschiedenen chronischen Nierenerkrankungen ohne Dialysepflichtigkeit und von NTx-Empfängern an einer ausreichenden Patientenzahl zu überprüfen (Gesamtanzahl  $n = 250$ ). Dabei wurde ein kürzlich publizierter Assay zur Bestimmung freier Immunglobulinleichtketten im Serum verwendet [24].

### **1.2.2 Etablierung der Bestimmung freier Immunglobulinleichtketten im Urin**

Anhand des oben erwähnten Assays zur Bestimmung freier Immunglobulinleichtketten im Serum sollte ein neuer Assay zur Messung freier IgLk im Urin etabliert werden. Zur Bestimmung freier Leichtketten im Urin stehen nur wenige methodische Ansätze zur Verfügung, die zuverlässig die Konzentrationen polyklonaler Leichtketten messen können.

### **1.2.3 Freie Immunglobulinleichtketten im Urin**

Die Datenlage zu freien Immunglobulinleichtketten im Urin ist ebenfalls unklar. Eine Ausscheidung freier Leichtketten im Urin wurde bisher nur bei proliferativen Erkrankungen nachgewiesen. Daher sollte auch dieser Parameter an dem oben beschriebenen Patientenkollektiv in ausreichend großer Zahl bestimmt werden, um zu untersuchen, ob und in wie weit die Ausscheidung freier Immunglobulinleichtketten bei den beschriebenen Patienten verändert ist.



#### **1.2.4 Bestimmung zusätzlicher Einflussgrößen**

Weiterhin wurden insbesondere der Einfluss von Nierenfunktion, Proteinurie und immunsuppressiver Therapie auf die Serum- und Urinkonzentrationen freier Immunglobulinleichtketten analysiert und weitere mögliche Einflussgrößen wie z.B. Geschlecht oder Alter bestimmt. Für die eingehendere Untersuchung des Einflusses der Immunsuppression standen zwei Modelle zur Verfügung: Ein Teil der chronisch Nierenkranke erhielt aufgrund der Grunderkrankung eine immunsuppressive Therapie; die Nierentransplantierten standen alle unter Immunsuppression. Ein weiteres Ziel der vorliegenden Studie war es, durch differenzierte Bestimmung der Proteinurie Rückschlüsse bezüglich der renalen Exkretion und tubulären Resorption freier Leichtketten zu ziehen.

## 2. PATIENTEN

### 2.1 *Kontrollgruppe*

Zur Kontrolle wurde von sieben männlichen und acht weiblichen Personen 24-Stunden-Urin gesammelt und Serum gewonnen. Ihr mittleres Alter war  $35, 2 \pm 0,8$  Jahre (MW  $\pm$  SEM). In dieser Gruppe waren keine Krankheiten bekannt und wurden keine Medikamente außer hormonaler Kontrazeption eingenommen.

### 2.2 *Patienten*

In die vorliegende Untersuchung wurden 250 Patienten einbezogen. Dabei handelte es sich um ein zufälliges Kollektiv von Ambulanzpatienten innerhalb eines Zeitraumes von drei Wochen. Einhundert Patienten hatten verschiedene chronische Nierenerkrankungen (CNE), waren aber nicht dialysepflichtig oder nierentransplantiert. Einhundertfünfzig Patienten waren nierentransplantiert.

Von den 100 chronisch Nierenkranken waren 54 Patienten weiblichen, 46 männlichen Geschlechts. Das Alter lag zwischen 18 und 88 Jahren mit einem mittleren Alter von  $52,8 \pm 0,2$  Jahren (MW  $\pm$  SEM). Vierundzwanzig dieser Patienten erhielten aufgrund ihrer Grunderkrankung eine immunsuppressive Behandlung. Acht Patienten wurden mit Cyclosporin A und Prednison, zehn nur mit Prednison und vier mit Cyclophosphamid und Prednison behandelt. Bei einem Patienten erfolgte die Therapie mit Cyclosporin A, bei einem anderen mit Prednison und Azathioprin. Die Serum-Kreatininwerte aller Patienten dieser Gruppe lagen zwischen 0,66 bis 6,65 mg/dl mit einem Mittel von  $2,3 \pm 0,1$  mg/dl (MW  $\pm$  SEM). Dreiundachtzig Patienten hatten eine Proteinurie, wobei die Werte zwischen 0,13 bis 12,5 g/24h und im Mittel bei  $1,9 \pm 0,1$  g/24h lagen (MW  $\pm$  SEM).

Folgende Grunderkrankungen wurden diagnostiziert: Bei 44 Patienten wurde eine Glomerulopathie (minimal-change-Glomerulopathie, fokale segmentale Sklerose, membranöse Glomerulonephritis, membranoproliferative Glomerulonephritis, rapid progrediente Glomerulonephritis, IgA-Glomerulonephritis, Pauci-Immun-Glomerulonephritis), bei 15 Patienten eine interstitielle Nephritis festgestellt. Dreizehn Patienten hatten als Grunderkrankung einen Diabetes mellitus und sechs eine Nephrosklerose. System-

krankheiten wie Vaskulitiden, Kollagenosen und M. Wegener waren bei vier Patienten ursächlich für die Niereninsuffizienz. Fünf Patienten hatten Zystennieren. Bei 13 Patienten war die Ursache für die Niereninsuffizienz nicht bekannt; z.T. lagen schon Schrumpfnieren vor. Eine detaillierte Auflistung aller Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen findet sich im Anhang.

Die 150 nierentransplantierten Patienten waren zwischen 20 und 74 Jahre alt und hatten ein mittleres Alter von  $52,5 \pm 0,1$  (MW  $\pm$  SEM) Jahren. Es waren 59 weibliche und 91 männliche Patienten. Ihre Serum-Kreatininwerte lagen zwischen 0,83 bis 6,15 mg/dl mit einem Mittel von  $1,9 \pm 0,1$  mg/dl (MW  $\pm$  SEM). Die Transplantation lag zwischen zwei Monaten und 25 Jahren und im Mittel  $6,5$  Jahre  $\pm 0,1$  (MW  $\pm$  SEM) zurück. Ursprünglich lag der Niereninsuffizienz bei 34 Patienten eine Glomerulopathie (minimal-change-Glomerulopathie, fokale segmentale Sklerose, membranöse Glomerulonephritis, membranoproliferative Glomerulonephritis, rapid progrediente Glomerulonephritis, IgA-Glomerulonephritis, Pauci-Immun-Glomerulonephritis) zugrunde. Achtzehn Patienten hatten eine interstitielle Nephritis. Bei 15 Patienten war eine diabetische Nephropathie der Grund der Niereninsuffizienz. Fünf litten an einer Nephrosklerose. Systemkrankheiten waren bei fünf Patienten für die Niereninsuffizienz verantwortlich. Bei 46 Patienten lag eine unklare Genese mit teilweise vorhandenen Schrumpfnieren vor. Alle nierentransplantierten Patienten wurden immunsuppressiv behandelt. Hundertzwei Patienten erhielten Cyclosporin A, Prednison und Azathioprin; 34 nahmen nur Cyclosporin A und Prednison ein. Drei Patienten bekamen Cyclosporin A und Azathioprin. Fünf Patienten wurden mit Azathioprin und Prednison, sechs nur mit Cyclosporin A behandelt. Hundertacht dieser 150 Patienten hatten eine Proteinurie mit Werten von 0,2 bis 13,8 g/24h und einem Mittel von  $1,3 \pm 0,1$  g/24h (MW  $\pm$  SEM). Eine detaillierte Auflistung aller Patienten nach Nierentransplantation findet sich im Anhang.

Von allen 250 Patienten und 15 Kontrollpersonen wurden jeweils Serumproben und Proben eines über 24 Stunden gesammelten Urins gewonnen. Das Serum wurde in EDTA-Röhrchen abgenommen. Zum Urin wurde kein Zusatz gegeben. Bis zur Analyse wurden die Proben bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert.

Das schriftliche Einverständnis aller Patienten lag vor.

### 3. METHODIK

#### 3.1 *Routinelabor*

Der Kreatiningehalt des Serums wurde nach der Jaffé-Methode kinetisch am Modular (Roche Diagnostics, Mannheim) bestimmt [74]. Der Normbereich lag zwischen 0,5 bis 1,3 mg/dl. Mit dem Urease-GLDH-UV-Test am Modular wurde die Harnstoffkonzentration im Serum analysiert [59]. Die Normwerte für diesen Parameter lagen zwischen 6 und 25 mg/dl. Das Gesamtprotein des Serums wurde ebenfalls per Modular nach der Biuret-Methode mit Normwerten zwischen 65 und 85 g/l nachgewiesen [30]. Durch die Benzethoniumchlorid-Methode am Hitachi 171 (Roche Diagnostics, Mannheim) wurde die Proteinurie gemessen [57]. Dabei fielen Werte bis 0,15 g/24h in den Normbereich.

## 3.2 *Leichtkettennachweis im Serum*

### 3.2.1 **Prinzip des Verfahrens**

Die Bestimmung der freien Leichtketten in Serum erfolgte durch Western Blotting. Zunächst wurden die Serumproteine durch SDS-PAGE aufgetrennt. Dabei handelt es sich um eine denaturierende Gelelektrophorese, bei der die Proteine anhand ihres Molekulargewichts voneinander separiert werden [62]. Danach erfolgte der Transfer der Proteine auf eine Nitrozellulose-Membran durch Semi-Dry-Blotting. Dort wurden die Immunglobulinleichtketten vom Kappa ( $\kappa$ )- oder Lambda ( $\lambda$ )-Typ durch spezifische erste Antikörper und einen Peroxidase-versehene sekundären Antikörper detektiert und mit einem Lumineszenzsystem als Banden auf einem Röntgenfilm sichtbar gemacht. Die Auswertung und Quantifizierung erfolgt durch Scannen der Filme und Berechnung der Konzentrationen durch eine Software. Alle eingesetzten Chemikalien, Puffer und Lösungen sind im Anhang aufgeführt.

Dabei ergaben sich folgende Besonderheiten: Leichtketten existieren in freier Form und als Bestandteil von Immunglobulinen. Durch die Elektrophorese werden die freien Leichtketten als Monomere und Dimere von den Immunglobulinen separiert. Dies konnte in Vorarbeiten gezeigt werden [24]. Albumin liegt im humanen Serum in einer hohen Konzentration vor. Sein Molekulargewicht liegt bei 68 kDa, das der Leichtkettendimere bei ungefähr 50 kDa. Das könnte zu Interferenzen bei der Elektrophorese und der anschließenden Quantifizierung führen. Daher wurde der Hauptalbuminanteil vor der Analyse durch spezifische Absorption an Blue-Sepharose entfernt. Um die Quantifizierung von einem möglichen Verlust an Leichtketten durch die Blue-Sepharose-Behandlung unabhängig zu machen, wurde eine bekannte Menge von  $\kappa$ - oder  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten als interner Standard einem Teil der Probe zugesetzt. Je vier Proben eines Patienten mit bzw. ohne Zusatz von Leichtketten wurden pro Gel aufgetrennt. Dabei musste die Konzentration der Zusätze in derselben Größenordnung (-80% bis +120%) wie die Leichtkettenkonzentrationen der Seren liegen. Diese Konzentrationen wurden in Vorversuchen bestimmt, in denen alle Seren auf einem SDS-PAGE-Gel aufgetrennt wurden. Dabei liefen auf jedem Gel Proben bekannter Leichtkettenkonzentration als externer Standard mit.

### 3.2.2 Analyse

Da Blue-Sepharose (Blue-Sepharose 6 FastFlow, Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg) in 20 %igem Ethanol aufbewahrt wird, musste sie vorher dreimal mit dem doppelten Volumen an PBS (s. Anhang) gewaschen werden, um den Alkohol zu entfernen. Zur Analyse wurde zu 30 µl Serum jeweils 30 µl PBS oder 30 µl Leichtketten (humanes Bence-Jones-Protein,  $\kappa$ - und  $\lambda$ - Leichtketten, Nordic Immunology, Tilburg, Niederlande) bekannter Konzentration gegeben. Die Proben wurden jeweils mit 140 µl der Blue-Sepharose-Suspension versehen und anschließend für 30 Minuten bei 37°C unter gleichmäßigem Schütteln im Thermomixer (Eppendorf, Hamburg) inkubiert. Danach wurde die Blue-Sepharose fünf Minuten bei 5000 rpm abzentrifugiert. Zu 10 µl des Überstandes wurden 10 µl eines nicht-reduzierenden SDS-PAGE-Probenpuffers (s. Anhang) hinzugefügt. Nach 20 Minuten Inkubationszeit bei 37°C wurden die Serumproteine durch nicht-reduzierende SDS-PAGE in einem Phast-Elektrophorese-System (Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg) [9] mit 12,5 %igen Polyacrylamidgelen aufgetrennt. Durch Semi-Dry-Elektroblotting (Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg) erfolgte die Übertragung auf eine Nitrozellulosemembran (Hybond ECL Nitrocellulose Membrane, Amersham Bioscience, Frankfurt a. M.). Vor der Markierung mit einem Antikörper wurde die Nitrozellulosemembran mit einer 5%igen Magermilchlösung in TBS-T (s. Anhang) geblockt, um unspezifische Bindungen zu verhindern. Nach dreimal fünfminütigem Waschen mit TBS-T wurde mit dem ersten, für die  $\kappa$ - oder  $\lambda$ - Immunglobulinleichtketten spezifischen Kaninchen-Antikörper (rabbit-anti-human, Sigma-Aldrich, München) in einer Verdünnung von 1:1000 in TBS-T bei 4°C über Nacht auf einem Schüttler inkubiert.

Am nächsten Tag wurde die Nitrozellulosemembran zunächst wieder dreimal für fünf Minuten mit TBS-T gewaschen, bevor mit dem zweiten Antikörper (goat-anti-rabbit, Amersham Bioscience, Frankfurt a. M.) inkubiert wurde. Dieser war mit Meerrettich-Peroxidase versehen. In einer Verdünnung von 1: 40000 in TBS-T wurde er auf die Nitrozellulosemembran gegeben und für eine Stunde bei Raumtemperatur auf einem Schüttler inkubiert. Nachdem dreimal fünf Minuten mit TBS-T gewaschen wurde, erreichte man durch die Hinzugabe von Detektionsreagenzien eines Visualisierungssystems (ECL Western Blotting Detection System, Amersham Bioscience, Frankfurt a. M.) eine Chemiluminiszenzreaktion. Diese wurde detektiert, in dem ein

Röntgenfilm (Hyperfilm ECL, Amersham Bioscience, Frankfurt a. M.) belichtet und anschließend entwickelt wurde. Dabei musste darauf geachtet werden, dass die Intensität der Banden nicht im Sättigungsbereich, d.h. bei vollständiger Filmschwärzung, lag. Dazu genügte teilweise sehr kurze Belichtungszeiten von wenigen Sekunden bis zu einer Minute.

Die Intensität der Leichtkettenbanden –  $\kappa$  und  $\lambda$  jeweils als Monomer und Dimer – wurde durch Scannen der Hyperfilme mit dem Ultra-Scan-XL (Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg) und dem image-master-1D- Programm (Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg) bestimmt und unter Berücksichtigung der hinzugegebenen bekannten Leichtkettenmenge die Konzentration in den Proben berechnet. In Abbildung 2 ist exemplarisch die Bestimmung freier Leichtketten im Serum zweier Patienten dargestellt.

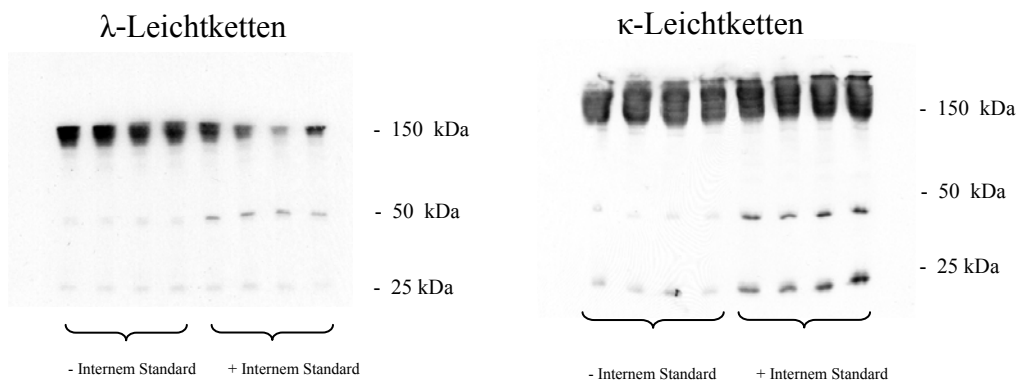


Abb. 2: Bestimmung der freien Leichtketten im Serum von Pat. 152 ( $\lambda$ ) und Pat. 5 ( $\kappa$ ): Gesamt-Ig bei 150 kDa, Dimere bei 50 kDa und Monomere bei 25 kDa.

### 3.3 *Leichtkettennachweis im Urin*

#### 3.3.1 **Prinzip des Verfahrens**

Die Bestimmung freier Leichtketten im Urin wurde in der vorliegenden Arbeit etabliert. Dazu wurde der Assay von Cohen et al. [24] zur Bestimmung freier Leichtketten im Serum modifiziert und zur Bestimmung im Urin verwendet. Aufgrund der zum Serum unterschiedlichen Proteinzusammensetzung und biochemischen Eigenschaften mussten einige Besonderheiten berücksichtigt werden. Proteine erscheinen beim Gesunden in sehr geringen Konzentrationen im Urin; bei einigen Krankheitsbildern jedoch massiv erhöht (s. Kapitel 1.1). Daher war eine Interferenz der Leichtkettendetektion mit anderen Proteinen unklar. Es war auch zu erwarten, dass die Leichtkettenkonzentrationen im Urin - im Gegensatz zu den Serumkonzentrationen - in sehr niedrigen Bereichen liegen. Zudem ist der pH des Urins (Normbereich pH < 7,0) verschieden von dem des Blutes (Normbereich: pH 7,38-7,42).

In Vorversuchen wurden Immunglobulinleichtketten-Konzentrationsreihen von 1 bis 500 µg/ml in gesundem Urin aufgetragen und gemessen, um die Detektionsgrenzen abzuschätzen. Es war möglich, bis zu einer Leichtketten-Konzentration von 1 µg/ml zu messen, ohne den Urin ankonzentrieren zu müssen. Zusätzlich wurden Eichgeraden im Urin Gesunder erstellt.

Um zu überprüfen, ob der pH-Wert die Analyse beeinflusst, wurde bei allen Urinproben der pH-Wert gemessen. Dabei ergab sich kein Einfluss auf die Messergebnisse.

Zur Kontrolle der Zuverlässigkeit der Methode wurden Wiederfindungsversuche angestellt. Dabei wurden definierte Mengen an Leichtketten dem Urin gesunder Spender zugesetzt und die Übereinstimmung geprüft. Diese Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt.



	Zusatz ( $\mu\text{g/ml}$ )	Erwartete Konz. ( $\mu\text{g/ml}$ )	Gemessene Konz. ( $\mu\text{g/ml}$ )	Wiederfindungs- verhältnis (%)
Kappa ( $\kappa$ )	2,5	2,5	2,6	104
	12,5	12,5	12,9	103
Lambda ( $\lambda$ )	2,5	2,5	2,8	112
	12,5	12,5	13,1	105

*Tabelle 3: Wiederfindungsversuche mit bekannten Konzentrationen (Konz.) im Urin von Gesunden. Die gemessenen Konzentrationen entsprechen den Mittelwerten aus zwei Messungen.*

Vor den Analysen wurden wie bei den Seren die Leichtkettenkonzentrationen der Urine durch Vorversuche abgeschätzt, um über die notwendigen Zusätze zu entscheiden. Aufgrund des geringen Anteils an Albumin in Urin auch bei großer Proteinurie kam es nicht zu Interferenzen bei der Auftrennung der Proteine und der Detektion. Daher wurde keine Blue-Sepharose-Behandlung benötigt.

### 3.3.2 Analyse

Zur Analyse wurde zu 30  $\mu\text{l}$  Urin jeweils 30  $\mu\text{l}$  PBS oder 30  $\mu\text{l}$  Leichtketten bekannter Konzentration gegeben und fünf Minuten bei 5000 rpm abzentrifugiert. Zu 10  $\mu\text{l}$  des Überstandes wurden 10  $\mu\text{l}$  eines nicht-reduzierenden SDS-PAGE-Probenpuffers hinzugefügt. Nach 20 Minuten Inkubationszeit bei 37°C wurden die Proteine durch nicht-reduzierende SDS-PAGE in einem Phast-Elektrophorese-System [9] mit 12,5 %igen Polyacrylamidgelen aufgetrennt. Durch Semi-Dry-Elektroblotting erfolgte die Übertragung auf eine Nitrozellulosemembran. Vor der Markierung mit einem Antikörper wurde die Nitrozellulosemembran mit einer 5%igen Magermilchlösung in TBS-T geblockt. Nach dreimal fünfminütigem Waschen mit TBS-T wurde mit dem ersten, für die  $\kappa$ - oder  $\lambda$ - Immunglobulinleichtketten spezifischen Kaninchen-Antikörper in einer Verdünnung von 1:1000 in TBS-T bei 4°C über Nacht auf einem Schüttler inkubiert.

Am nächsten Tag wurde die Nitrozellulosemembran nach dreimaligem Waschen mit TBS-T für eine Stunde mit dem zweiten Antikörper inkubiert. Durch Hinzugabe von Detektionsreagenzien eines ECL-Systems erzielte man eine Chemilumineszenzreaktion. Diese wurde detektiert, indem ein Röntgenfilm belichtet und anschließend entwickelt wurde. Die Intensität der Leichtkettenbanden,  $\kappa$  und  $\lambda$  jeweils als Mo-

nomer und Dimer, wurde durch Scannen der Hyperfilme mit dem Ultra-Scan-XL und dem image-master-1D- Programm bestimmt und unter Berücksichtigung der hinzugegebenen bekannten Leichtkettenmenge die Konzentration in den Proben berechnet. In Abbildung 3 ist die Bestimmung freier Leichtketten exemplarisch im Urin zweier Patienten dargestellt.

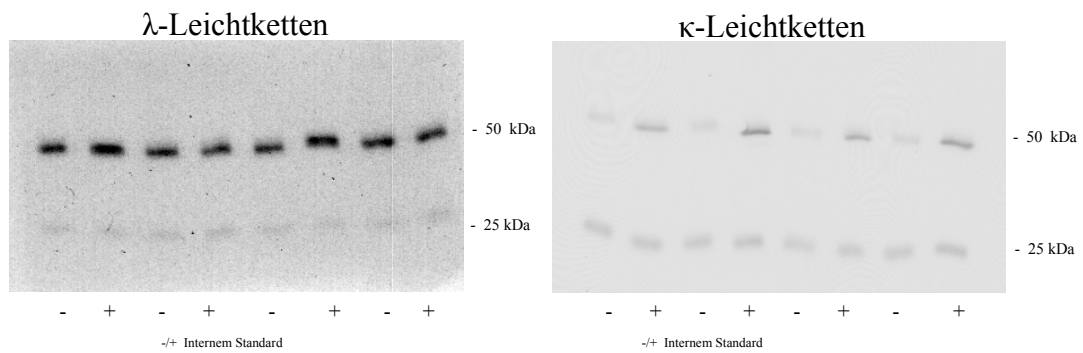


Abb. 3: Bestimmung der freien Leichtketten im Serum von Pat. 227 ( $\lambda$ ) und Pat. 207 ( $\kappa$ ): Dimere bei 50 kDa und Monomere bei 25 kDa.

### ***3.4 Differenzierung der Proteinurie***

Um die Art der Proteinurie (tubulär, glomerulär, Albuminurie oder unselektiv) zu beurteilen, wurden die Urine der Patienten, die laut Routinebefund eine Proteinurie hatten, zunächst durch SDS-Elektrophorese (s.o.) aufgetrennt und anschließend mittels Silberfärbung behandelt. Dabei wurde das Verfahren nach Heukeshoven und Dernick [50] angewandt. Auf jedem Gel lief ein Molekulargewichtsmarker mit (Low Molecular Weight Electrophoresis Calibration Kit, Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg), um so die Molekulargewichte der Urinproteine bestimmen zu können. Die Proteinurietypen wurden anhand der bekannten Kriterien nach Boesken et al. unterteilt [95].

### 3.5 Berechnung der Kreatininclearance

Die Kreatininclearance wurde einerseits mit der Formel nach Cockcroft-Gault [20] berechnet:

♂	$\text{GFR [ml/min]} = (140 - \text{Jahre}) \times (\text{Gewicht}) / (\text{C} \times 72)$
♀	$\text{GFR [ml/min]} = (140 - \text{Jahre}) \times (\text{Gewicht}) \times 0.85 / (\text{C} \times 72)$

andererseits nach der MDRD-Formel [66]:

$$\text{GFR [ml/min]} = 170 \times \text{C [mg\%]}^{-0,999} \times [\text{Jahre}]^{-0,167} \times \text{U [mg\%]}^{-0,170} \times \text{A [g/\%]}^{0,318} \times \text{k.}$$

Für beide Formeln gilt: C = Plasmakreatinin, Jahre = Lebensalter, U = Plasma-Harnstoff, A = Plasmaalbumin und k = Korrekturfaktor für Frauen 0,762.

### 3.6 Statistik

Die Ergebnisse werden als Mittelwert  $\pm$  der Standardabweichung der Mittelwerte (MW  $\pm$  SEM) angegeben. Die statistische Analyse für die Vergleiche zwischen den Gruppen erfolgte mit dem Kruskal-Wallis-Test und dem U- (Wilcoxon-Mann-Whitney-) Test.

P-Werte kleiner als 0,05 wurden als signifikant angenommen. Die Korrelationen wurden mit Spearman-Rangkorrelationen berechnet. Für das Matching wurde der Wilcoxon-Vorzeichentest benutzt.

## 4. ERGEBNISSE

### 4.1 *Kontrollgruppe (n=15)*

#### 4.1.1 Serum

Im Serum lag die Konzentration freier Leichtketten im Mittel bei  $36 \pm 4 \mu\text{g/ml}$  für  $\kappa$  und  $31 \pm 3 \mu\text{g/ml}$  für  $\lambda$  (MW  $\pm$  SEM) mit einem  $\kappa/\lambda$ -Verhältnis von 1,1. Das Monomer-Dimer-Verhältnis der  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten war 1,5, das der  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten 2,1 (siehe Tabelle 4).

#### 4.1.2 Urin

Im Urin betrug die durchschnittliche  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentration  $0,01 \pm 0,01 \text{ mg/24h}$  (MW  $\pm$  SEM) bzw.  $0,01 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$ , die durchschnittliche  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentration  $1,04 \pm 0,5 \text{ mg/24h}$  bzw.  $0,66 \pm 0,3 \mu\text{g/ml}$  (MW  $\pm$  SEM). Die Verhältnisse von Monomer zu Dimer waren aufgrund der kleinen Werte nicht bestimmbar (siehe Tabelle 5).

## 4.2 Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen (n=100)

### 4.2.1 Serum

Der mittlere Wert der  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten im Serum dieser Patienten betrug  $54 \pm 4 \mu\text{g/ml}$  (MW  $\pm$  SEM), der von  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten  $48 \pm 4 \mu\text{g/ml}$  (MW  $\pm$  SEM). Dabei ergab sich ein  $\kappa/\lambda$ -Verhältnis von 1,1. Das Monomer-Dimer-Verhältnis lag für die  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten bei 1,0, für die  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten bei 0,8 (siehe Tabelle 4).

	$\kappa$	$\lambda$	$\kappa/\lambda$	M/D $\kappa$	M/D $\lambda$	Krea	n
Kontrollen	$36 \pm 4$	$31 \pm 3$	1,1	1,5	2,1	-	15
CNE	$54 \pm 4$	$48 \pm 4$	1,1	1,0*	0,8*	2,3	100
NTx	$47 \pm 3$	$44 \pm 3$	1,1	1,1*	0,9*	1,9	150

Tabelle 4: Freie Leichtketten im Serum von Kontrollen, Nierentransplantierten (NTx) und Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen (CNE). Alle Werte sind in  $\mu\text{g/ml}$  als MW  $\pm$  SEM angegeben.

M/D = Monomer-Dimer-Verhältnis

Krea = (Serum-Kreatinin in mg/dl)

\* =  $p < 0,05$  versus Kontrollen

### 4.2.2 Urin

Im Urin erreichten die  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten eine mittlere Konzentration von  $23 \pm 4$  mg/24h respektive  $9,0 \pm 0,4$   $\mu$ g/ml (MW  $\pm$  SEM). Die  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten lagen im Mittel bei  $22 \pm 4$  mg/24h und  $8,0 \pm 0,3$   $\mu$ g/ml (MW  $\pm$  SEM). Das  $\kappa/\lambda$ -Verhältnis betrug 1,0.

Monomer und Dimer lagen bei den  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten im Verhältnis von 2 vor. Bei den  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten ergab sich ein Verhältnis von 0,3 (siehe Tabelle 5).

	$\kappa$	$\lambda$	$\kappa / \lambda$	M/D		Krea	n
				$\kappa$	$\lambda$		
Kontrollen	$0,01 \pm 0,01$	$1,04 \pm 0,5$	nd	nd	nd	-	15
CNE	$22,7 \pm 4,4$ **	$21,8 \pm 3,5$ **	1,0	2,0	0,3	2,3	100
NTx	$8,9 \pm 1,7$ *	$11,6 \pm 1,6$ *	0,8	1,5	0,3	1,9	150

**Tabelle 5:** Freie Leichtketten im Urin von Kontrollen, Nierentransplantierten (NTx) und Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen (CNE). Alle Werte sind in mg/24h als MW  $\pm$  SEM angegeben.

M/D = Monomer-Dimer-Verhältnis

Krea = ( Serum-Kreatinin in mg/dl)

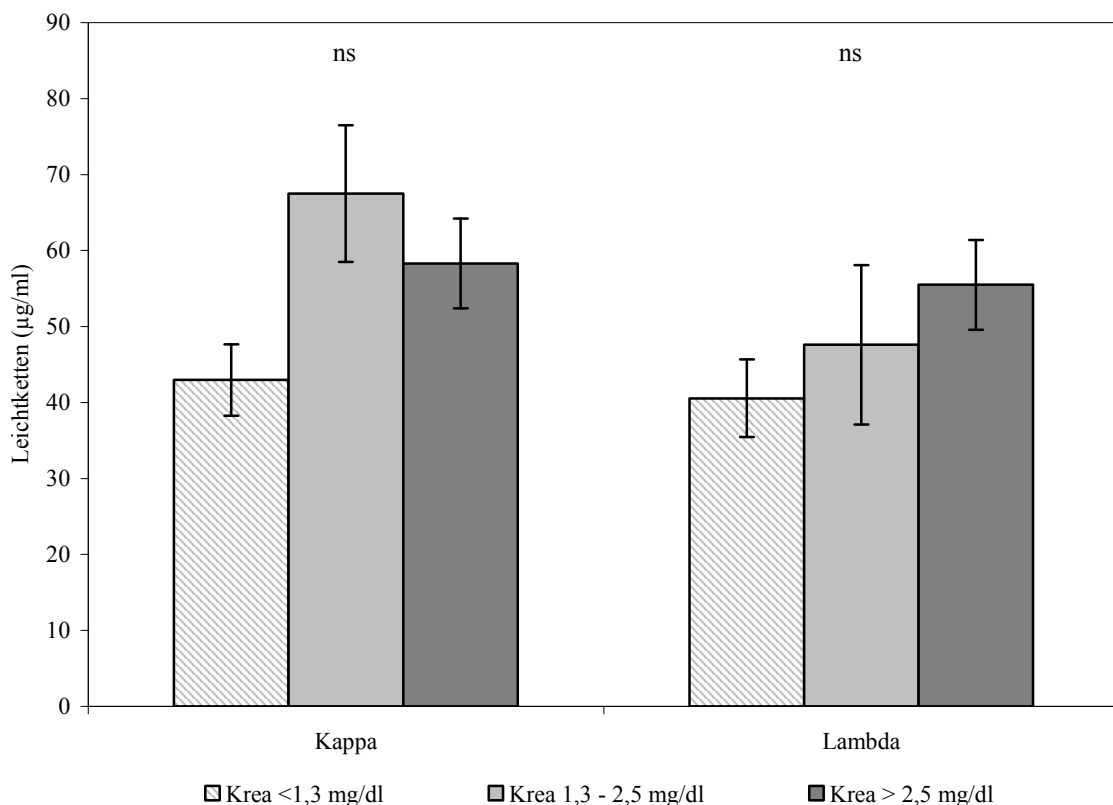
\* =  $p < 0,0001$  gegen Kontrollen

\*\* =  $p < 0,0001$  gegen Kontrollen,  $p < 0,0009$  gegen NTx

### 4.2.3 Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen und verschiedenen Graden beeinträchtigtter Nierenfunktion

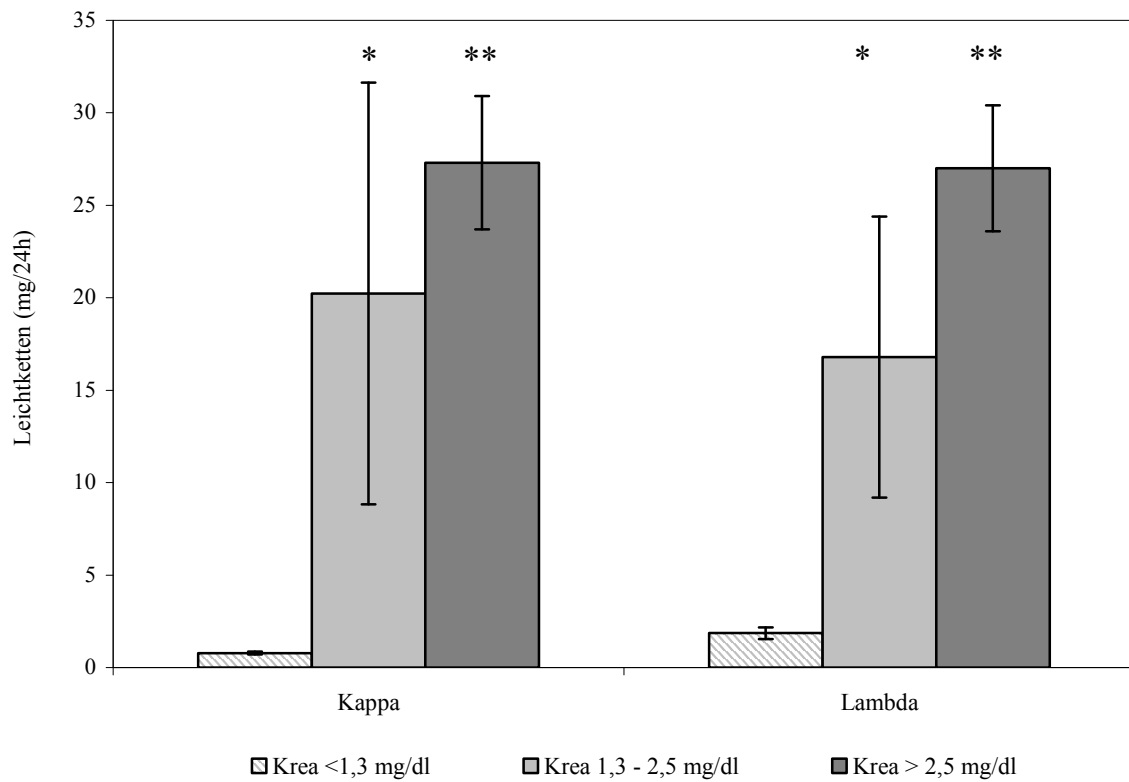
Abbildung 4a demonstriert, dass die Serumkonzentrationen von freien Leichtketten bei Patienten mit einem Serum-Kreatinin  $< 1,3$  mg/dl ( $n=39$ ) am niedrigsten waren. Bei Patienten mit einem Serum-Kreatinin zwischen  $1,3$  und  $2,5$  mg/dl ( $n=23$ ) fand sich eine tendenziell erhöhte  $\kappa$ -Konzentration, die bei Patienten mit höherem Serum-Kreatinin ( $\geq 2,5$  mg/dl;  $n=38$ ) wieder abfiel.  $\lambda$ -Leichtketten stiegen mit zunehmender Niereninsuffizienz an. Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren jedoch nicht statistisch signifikant.

Im Urin erhöhten sich die Konzentrationen der freien Immunglobulinleichtketten signifikant (für  $\kappa$ -IgLk  $p<0,0001$ ; für  $\lambda$ -IgLk  $p<0,002$ ) mit steigendem Serum-Kreatinin (Abbildung 4b).



**Abb. 4a:** Freie Immunglobulinleichtketten im Serum von CNE-Patienten in Abhängigkeit vom Serum-Kreatinin. Alle Werte sind als  $MW \pm SEM$  angegeben.





**Abb. 4b:** *Freie Immunglobulinleichtketten im Urin von CNE-Patienten in Abhängigkeit von Serum-Kreatinin (\* =  $p < 0,001$  Vergleich mit Patienten mit Krea  $< 1,3 \text{ mg/dl}$ ; \*\* =  $p < 0,002$  Vergleich mit Patienten mit Krea  $1,3 - 2,5 \text{ mg/dl}$ ). Alle Werte sind als  $MW \pm SEM$  angegeben.*

#### 4.2.4 Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen und verschiedenen Graden von Proteinurie

Die Serum- und Urinkonzentrationen der freien Leichtketten wurden hinsichtlich der Proteinurie der Patienten unterteilt. Die Differenzierung erfolgte aufgrund einer Proteinurie  $< 1 \text{ g}/24\text{h}$  ( $n=53$ ) und  $\geq 1 \text{ g}/24\text{h}$  ( $n=47$ ).

Im Serum zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen (Abbildung 5a). Die  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten waren in der Gruppe mit der größeren Proteinurie leicht erhöht.  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten waren jedoch im Vergleich zu der Gruppe mit geringerer Proteinurie leicht erniedrigt.

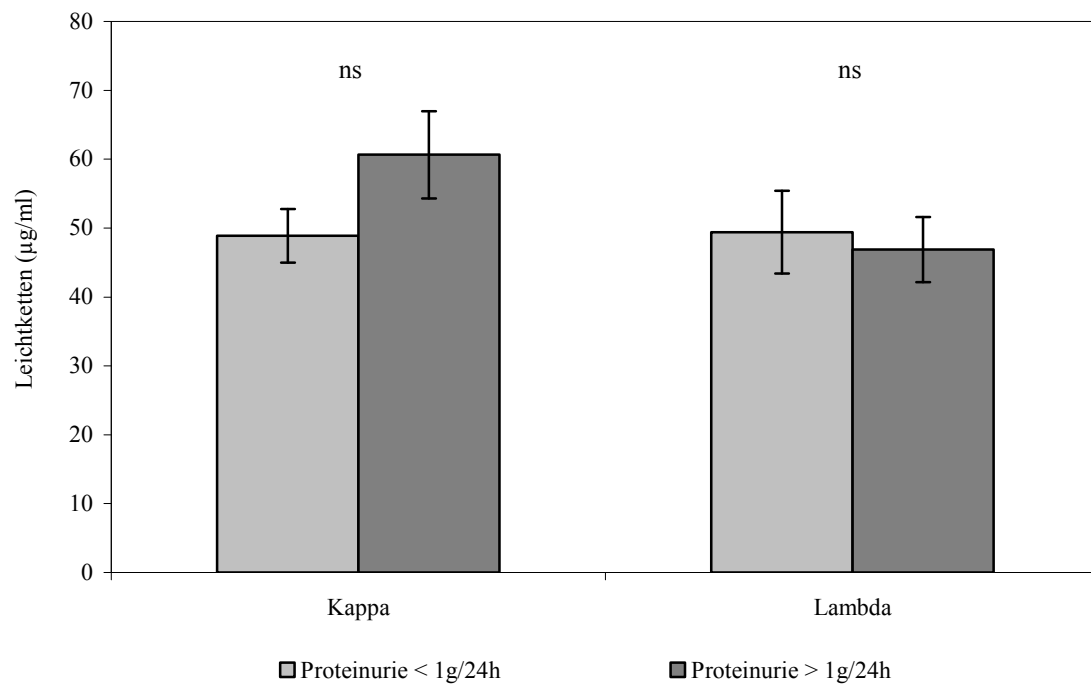


Abb. 5a: Freie Immunglobulinleichtketten im Serum von CNE-Patienten in Abhängigkeit von der Proteinurie. Alle Werte sind als  $MW \pm SEM$  angegeben.

Die Ausscheidung der freien Leichtketten im Urin stieg signifikant an ( $p < 0,006$ ), wenn die Proteinurie 1 g/24h überschritt (Abbildung 5b).

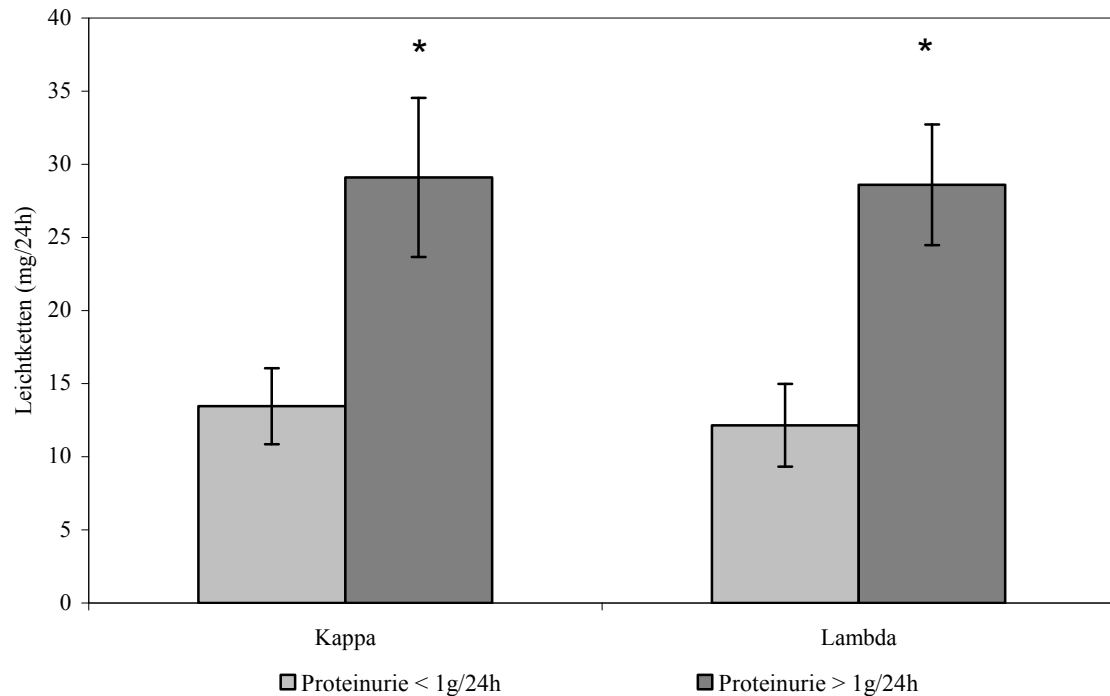
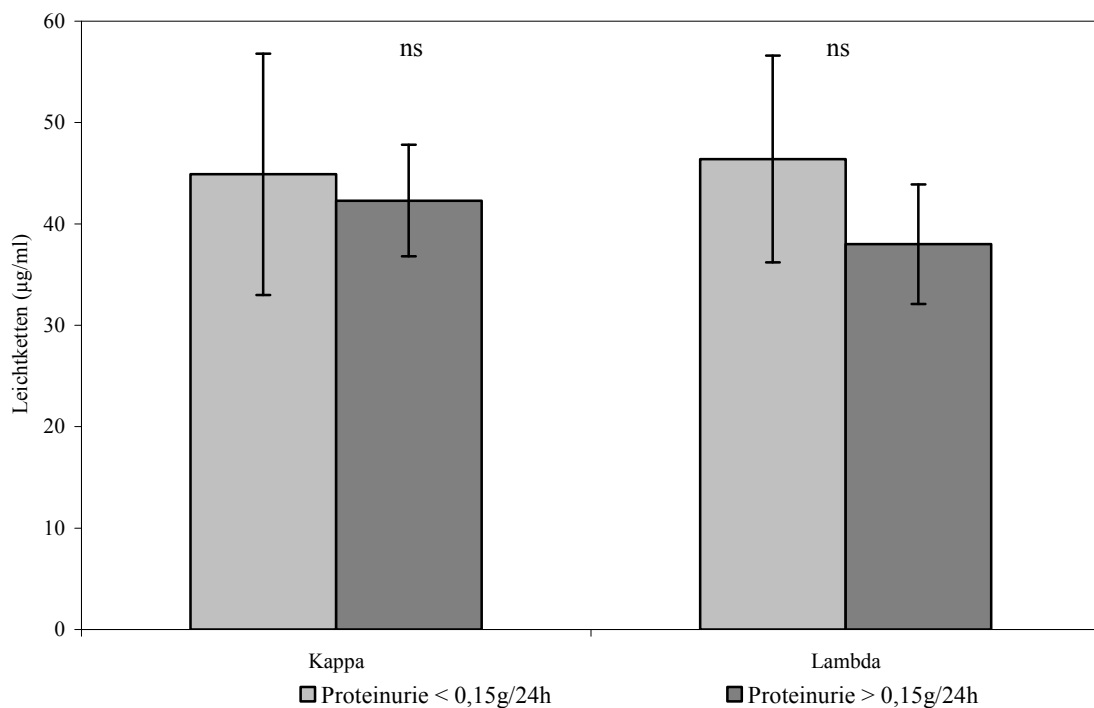


Abb. 5b: Freie Immunglobulinleichtketten im Urin von CNE-Patienten in Abhängigkeit von der Proteinurie (\* =  $p < 0,006$ ). Alle Werte sind als  $MW \pm SEM$  angegeben.

#### 4.2.5 Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen und normalem Serum-Kreatinin: mit und ohne Proteinurie

Die Patienten mit normwertigem Serum-Kreatinin wurden in Bezug auf eine Proteinurie genauer betrachtet. Wie Abbildung 6 zeigt, ergab sich kein signifikanter Unterschied von  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten im Serum zwischen Patienten ohne Proteinurie (n=10) und solchen mit Proteinurie (n=28), wobei erstere aber im Mittel tendenziell höhere Konzentrationen aufwiesen (ns).



*Abb. 6: Freie Immunglobulinleichtketten im Serum bei CNE-Patienten mit normalem Serum-Kreatinin: Vergleich mit und ohne Proteinurie.*

#### 4.2.6 Korrelationen

##### 4.2.6.1 Korrelationen mit Geschlecht, Alter und Gewicht

Die Serum- und Urinkonzentrationen der freien Leichtketten korrelierten weder mit dem Geschlecht noch dem Alter oder Gewicht der Patienten (nicht dargestellt).

##### 4.2.6.2 Korrelationen mit Serum-Kreatinin und Kreatinin-Clearance

Die Abbildungen 7a und 7b zeigen, dass die Leichtkettenkonzentrationen im Serum nicht signifikant mit den Serum-Kreatininwerten korrelierten. Das gleiche gilt für die nach Cockcroft-Gault berechnete Kreatinin-clearance (Abbildungen 8a und 8b). Auch die nach der MDRD-Formel berechnete Kreatinin-clearance zeigte keine signifikante Korrelation (nicht dargestellt).

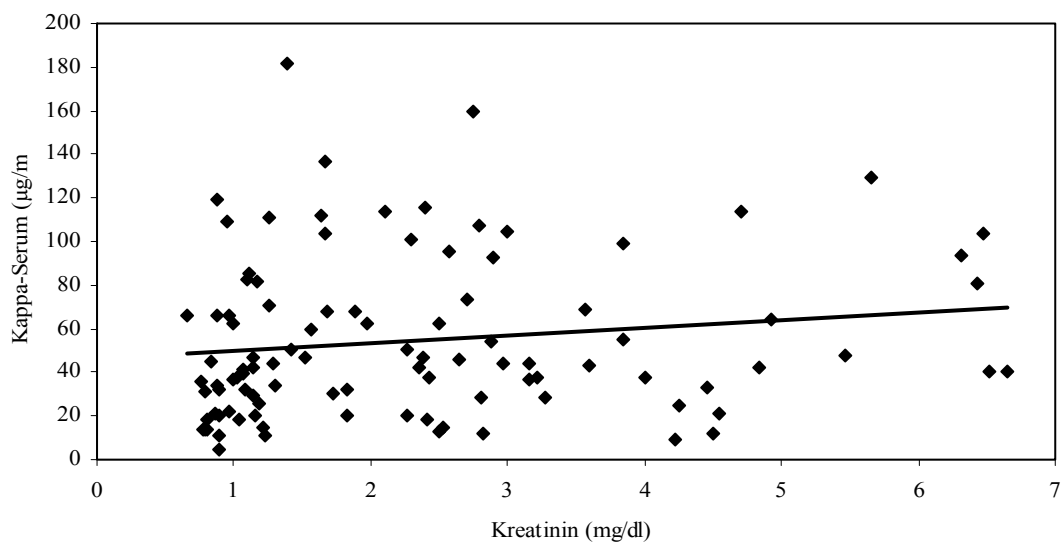


Abb. 7a: Korrelation von Serum-Kreatinin und  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentration im Serum ( $r=0,20$ ).

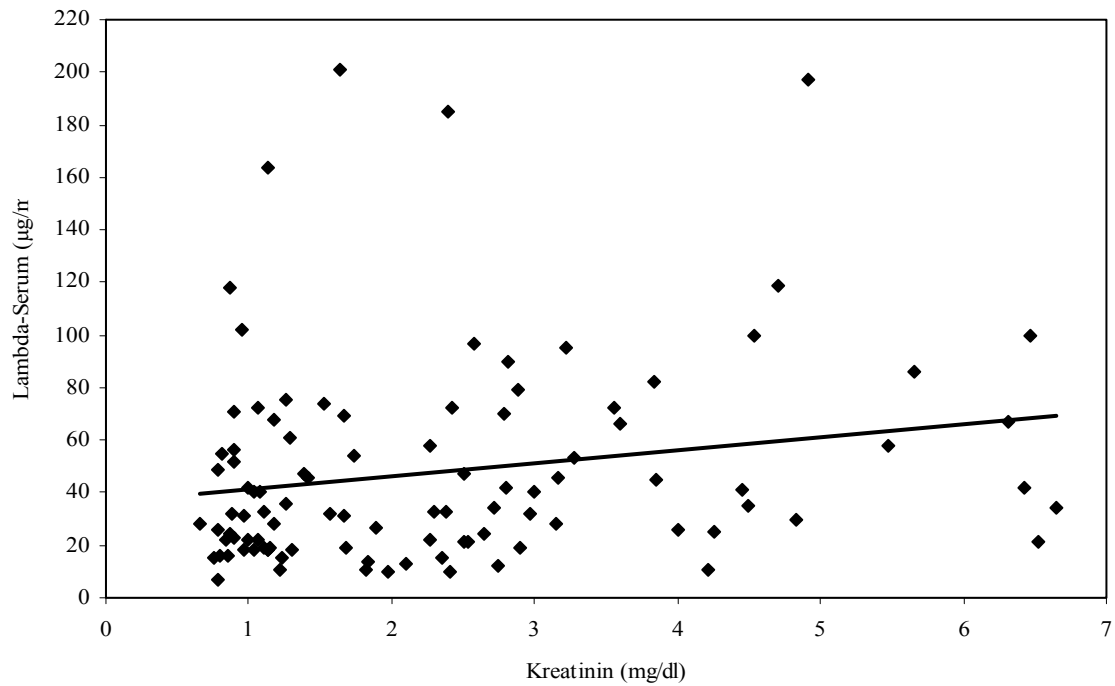


Abb. 7b: Korrelation von Serum-Kreatinin und  $\lambda$ - Immunglobulinleichtketten-Konzentration im Serum ( $r=0,25$ ).

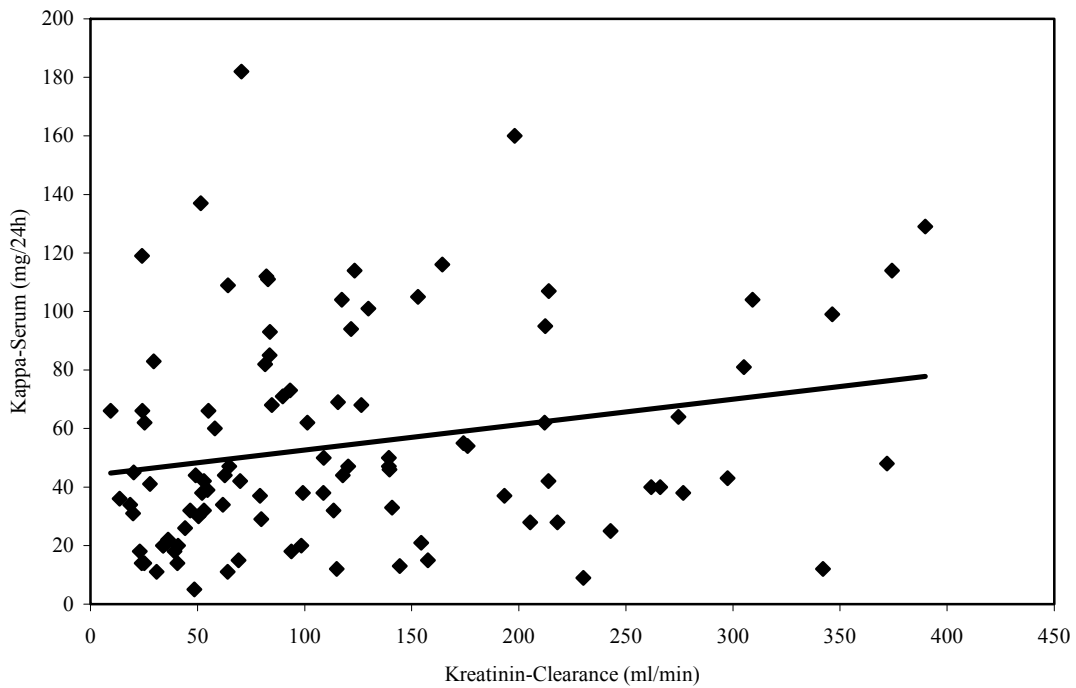
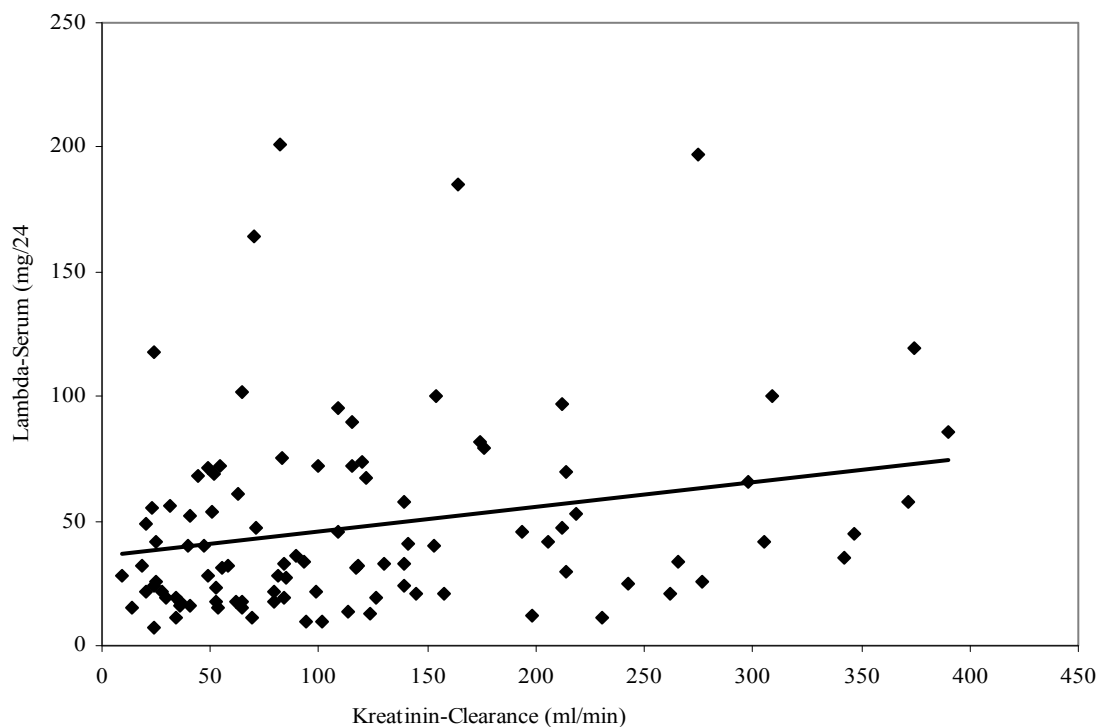
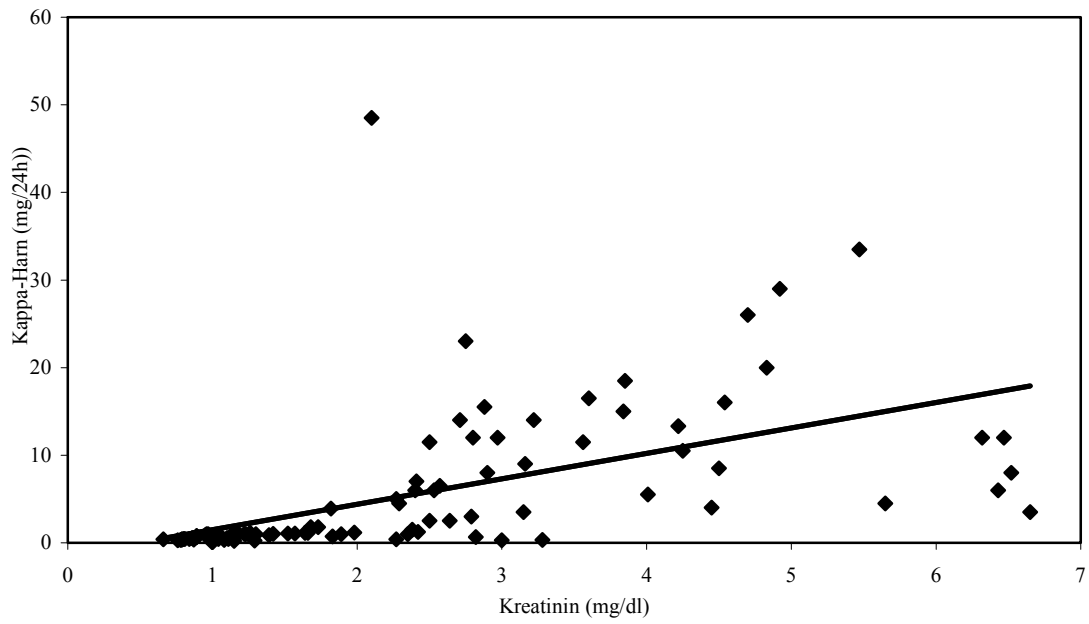


Abb. 8a: Korrelation von Kreatinin-Clearance und  $\kappa$ - Immunglobulinleichtketten-Konzentration im Serum ( $r = 0,22$ ).

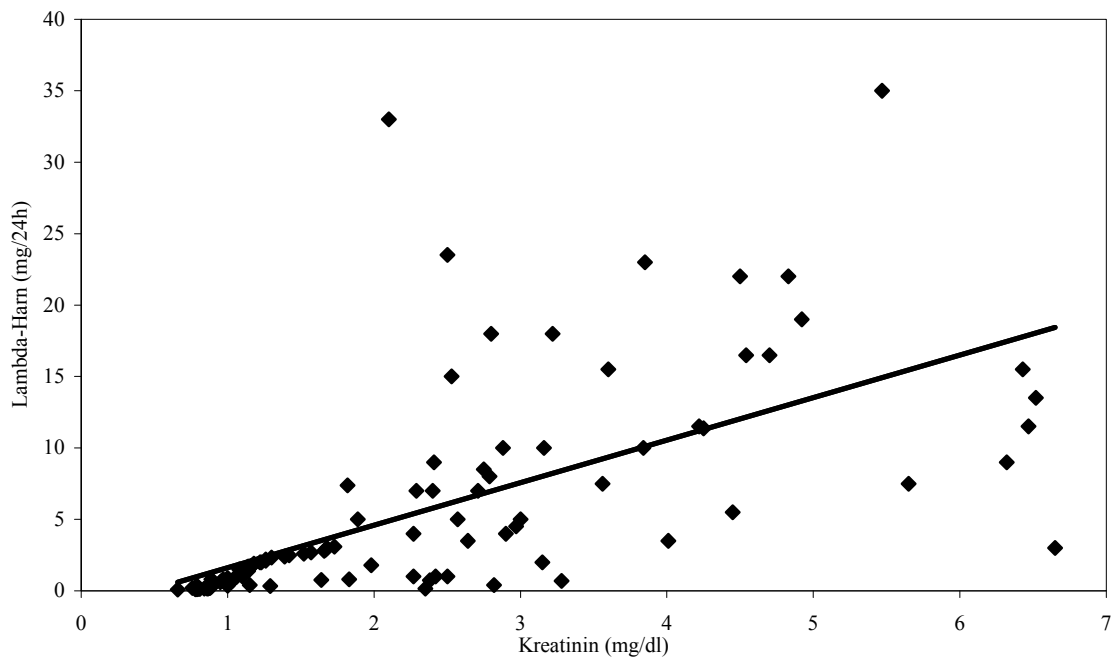


*Abb. 8b:* Korrelation von Kreatinin-Clearance und  $\lambda$ - Immunglobulinleichtketten-Konzentration im Serum ( $r = 0,24$ ).

Es fand sich jedoch eine signifikanzpositive Korrelation (Korrelationskoeffizient nach Spearman  $r=0,54$  für  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten;  $r=0,69$  für  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten;  $p<0,0001$ ) von Serum-Kreatinin und  $\kappa$ - wie auch  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen im Urin (Abbildungen 9a und 9b). Auch die Kreatinin-Clearance der Patienten (sowohl nach Cockcroft-Gault als auch nach MDRD) und die Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen zeigten eine ähnlich signifikante Korrelation (Abbildungen 10a und 10b: nach Cockcroft-Gault berechnete Kreatinin-Clearance).

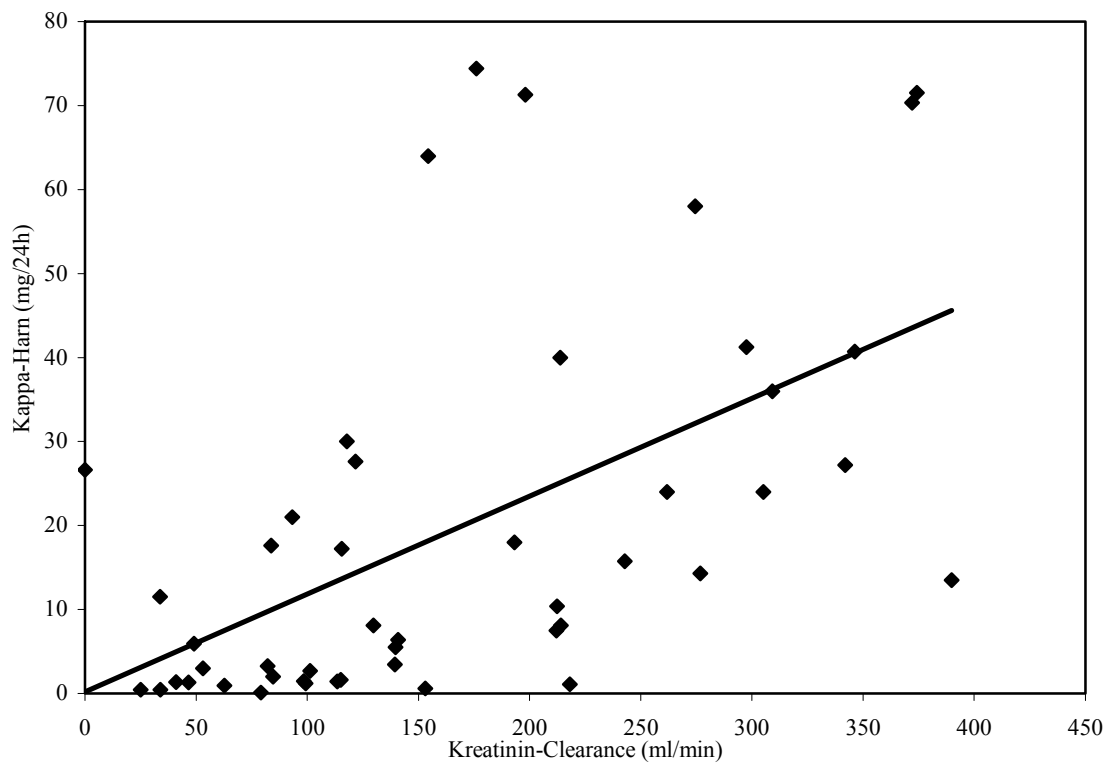


*Abb. 9a: Korrelation von Serum-Kreatinin und  $\kappa$ - Immunglobulinleichtketten-Konzentration im Urin ( $r=0,54$ ;  $p<0,0001$ ).*

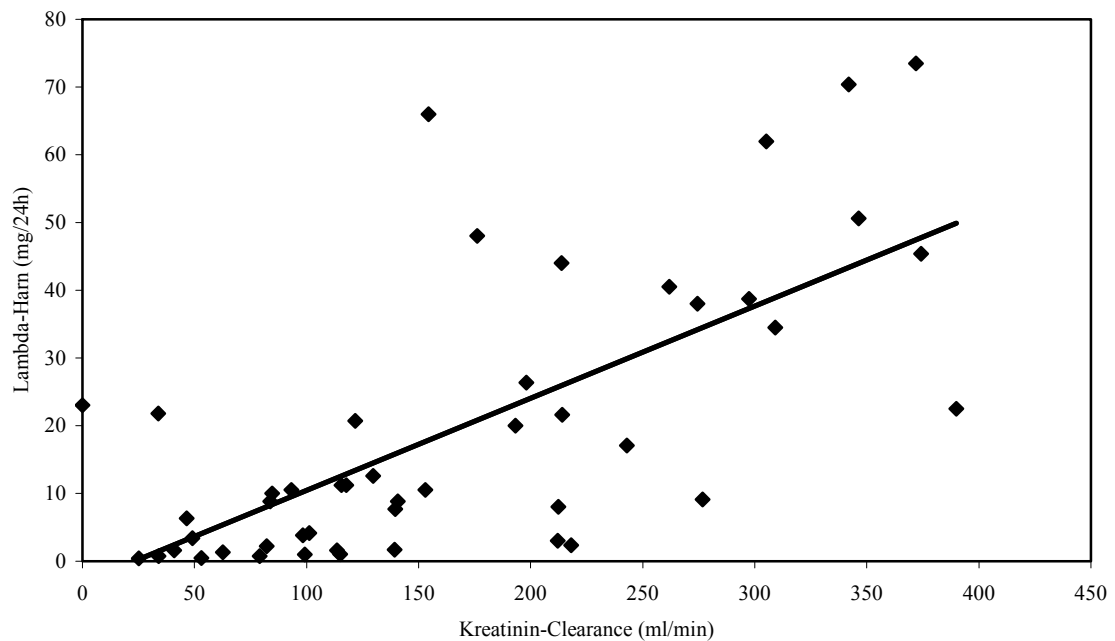


*Abb. 9b: Korrelation von Serum-Kreatinin und  $\lambda$ - Immunglobulinleichtketten-Konzentration im Urin ( $r=0,69$ ;  $p<0,0001$ ).*





*Abb. 10a:* Korrelation von Kreatinin-Clearance und  $\kappa$ - Immunglobulinleichtketten-Konzentration im Urin ( $r = 0,55$ ;  $p < 0,0001$ ).



*Abb. 10b:* Korrelation von Kreatinin-Clearance und  $\lambda$ - Immunglobulinleichtketten-Konzentration im Urin ( $r = 0,69$ ;  $p < 0,0001$ ).

#### 4.2.6.3 Korrelationen mit der Proteinurie

Es ergab sich bei Patienten mit geringer Proteinurie (Proteinurie  $< 1$  g/24h) eine signifikante Korrelation ( $r=0,58$  für  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten;  $r = 0,65$  für  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten) mit der Immunglobulinleichtketten-Ausscheidung im Urin (Abbildungen 11a und b). In den Abbildungen 11c und 11d zeigt sich jedoch, dass dieser Effekt bei stärkerer Proteinurie (Proteinurie  $\geq 1$  g/24h) für beide Leichtkettentypen nicht zu beobachten ist.

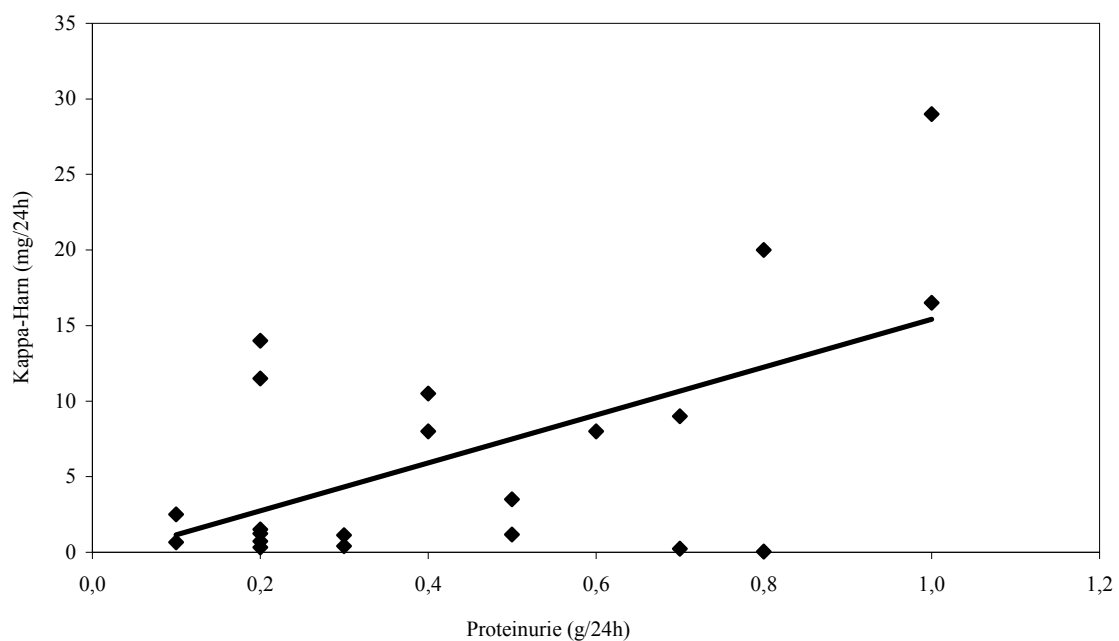
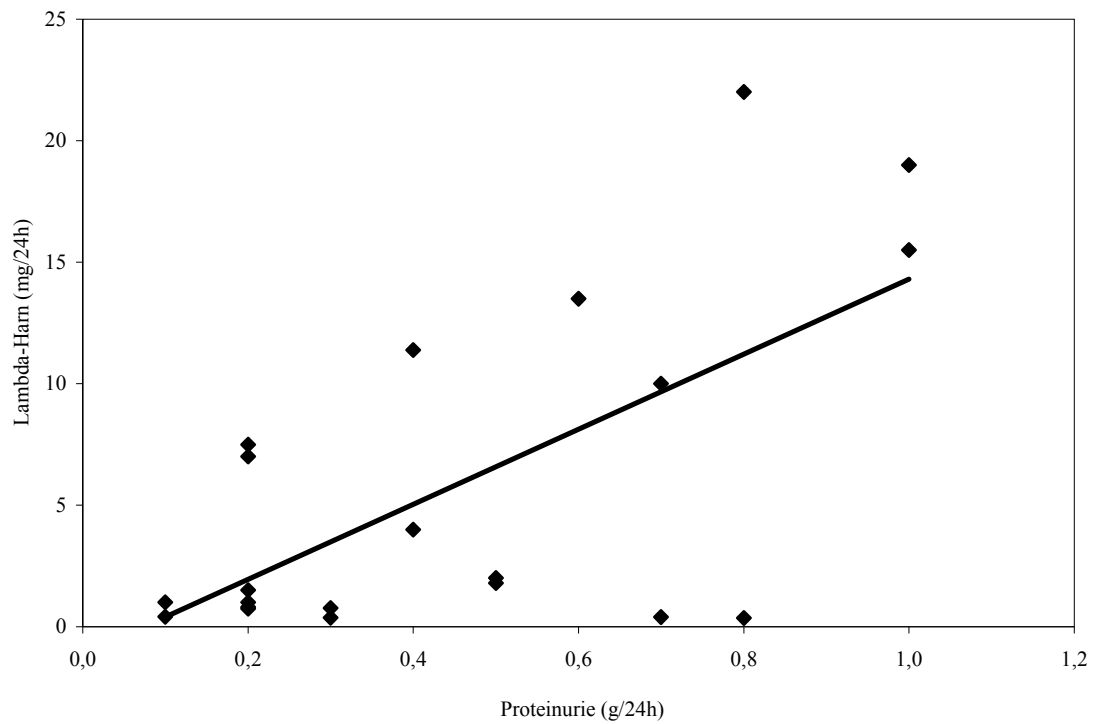
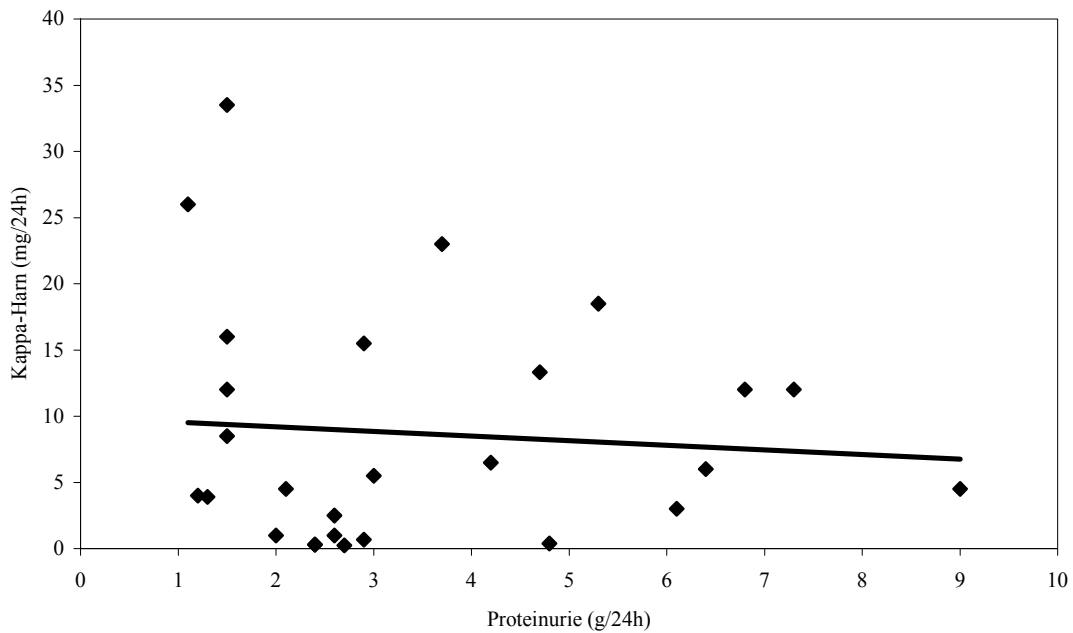


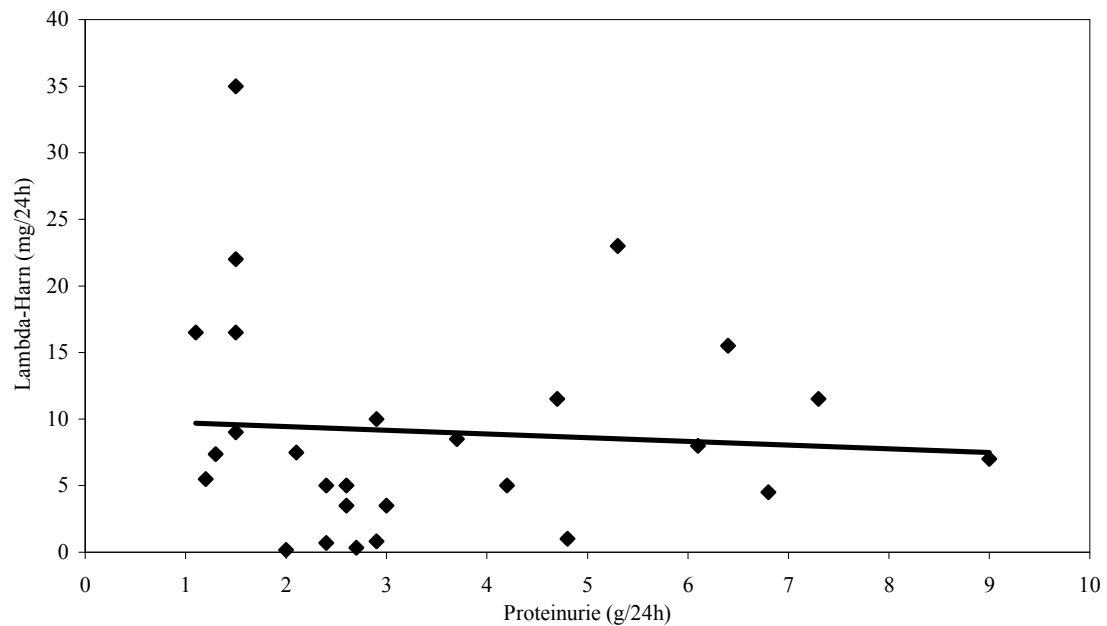
Abb. 11a: Korrelation von Proteinurie ( $< 1$ g/24h) und  $\kappa$ - Immunglobulinleichtketten-Konzentration im Urin ( $r=0,58$ ;  $p<0,05$ ).



*Abb. 11b:* Korrelation von Proteinurie (< 1g/24h) und  $\lambda$ - Immunglobulinleichtketten-Konzentration im Urin ( $r=0,65$ ;  $p<0,05$ ).



*Abb. 11c:* Korrelation von Proteinurie ( $\geq 1$  g/24h) und  $\kappa$ - Immunglobulinleichtketten-Konzentration im Urin ( $r=0,1$ ).



*Abb. 11d:* Korrelation von Proteinurie ( $\geq 1$  g/24h) und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentration im Urin ( $r=0,1$ ).

#### 4.2.6.4 Korrelationen mit der Grunddiagnose

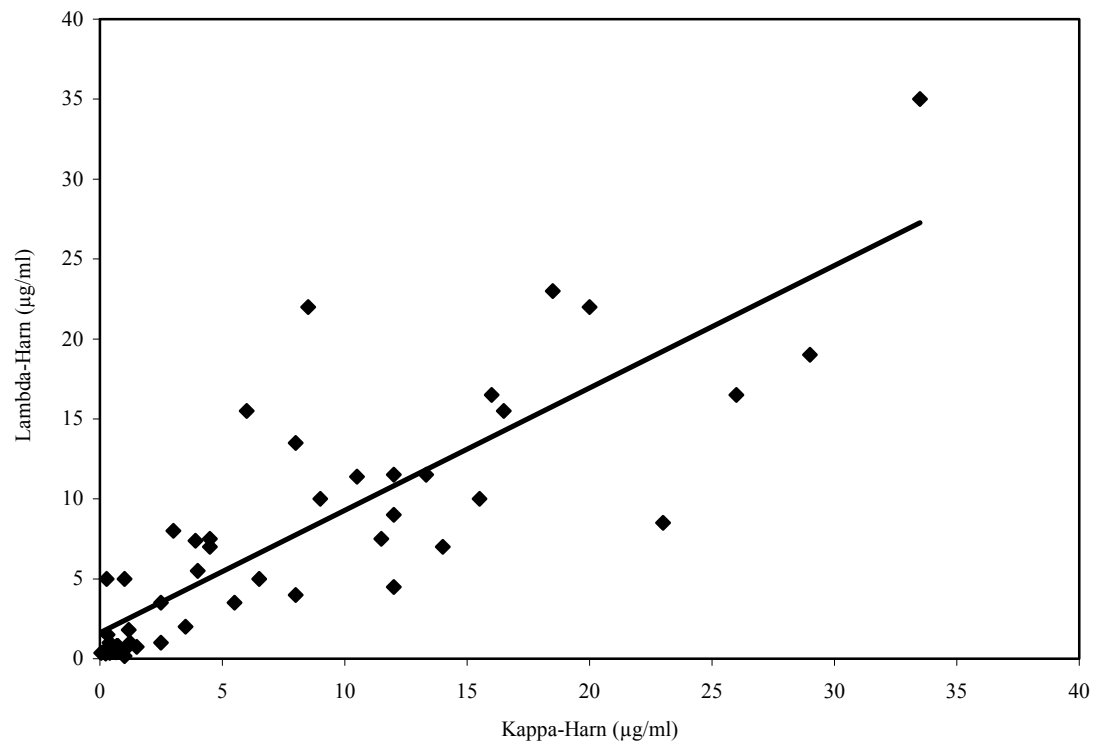
Bei der Differenzierung und Einteilung der Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen in diagnoseabhängige Gruppen ergaben sich keine Unterschiede und Korrelationen bezüglich der Konzentrationen der freien Immunglobulinleichtketten in Serum und Urin (nicht dargestellt).

#### 4.2.6.5 Korrelationen zwischen Serum- und Urinkonzentrationen der freien Immunglobulinleichtketten

Zwischen der Serum- und der Urinkonzentration fanden sich für  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten keine Korrelationen (nicht dargestellt).

#### 4.2.6.6 Korrelationen der freien Leichtketten zueinander in Serum und Urin

Im Serum korrelierten  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten nur schwach ( $r=0,33$ ; nicht dargestellt). Abbildung 12 zeigt die starke Korrelation zwischen  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten im Urin ( $r=0,87$ ;  $p<0,0001$ ).



*Abb. 12:* Korrelation von  $\kappa$ - zu  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten im Urin ( $r=0,87$ ;  $p<0,0001$ ).

### ***4.3 Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen und Immunsuppression***

In Tabelle 6 und 7 sind die Serum- und Urinkonzentrationen von  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten der Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen, die aufgrund ihrer Grunderkrankung eine immunsuppressive Therapie erhielten, den anderen Gruppen gegenüber gestellt.

Die Serumwerte lagen im Mittel unter den Werten der Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen ohne Immunsuppression. Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant. Im Vergleich zu den Werten der ebenfalls immunsupprimierten Nierentransplantierten lagen diese auf einer Höhe (siehe Tabelle 6).

Im Urin lagen die  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen signifikant ( $p < 0,004$ ) unter den Werten der Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen ohne Immunsuppression. Wiederum waren die Leichtkettenkonzentrationen im Urin dieser Gruppe vergleichbar mit den Werten der Nierentransplantierten (siehe Tabelle 7).

Die Korrelationen dieser Gruppe bezüglich Geschlecht, Alter, Gewicht, Serum-Kreatinin, Kreatinin-clearance, Proteinurie, Diagnose und Serum/Urin stimmten mit denen der Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen überein. Zur genaueren Überprüfung eventueller Zusammenhänge wurden diese Patienten mit und ohne Immunsuppression einander zugeordnet. Dieses Matching (nicht dargestellt) fand nach folgenden Kriterien statt: Geschlecht, Alter, Serum-Kreatinin, Grunddiagnose, Proteinuriemenge und -typ. Es ergab sich ein signifikanter Unterschied für die  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentration im Serum und die  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentration im Urin ( $p < 0,02$ ;  $p < 0,01$ ).

	$\kappa$	$\lambda$	$\kappa / \lambda$	M/D $\kappa$	M/D $\lambda$	Krea	n
Kontrolle	36 ± 4	31 ± 3	1,1	1,5	2,1	-	15
CNE ohne IST	57 ± 4	49 ± 4	1,2	0,9	0,7	2,6	76
CNE mit IST	46 ± 6	44 ± 9	1,0	1,2	1,1	1,5	24
NTx	47 ± 3	44 ± 3	1,1	1,1	0,9	1,9	15

**Tabelle 6:** Freie Leichtketten im Serum von Kontrollen, Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen (CNE) mit und ohne immunsuppressive Therapie (IST) und Nierentransplantierten (NTx). Alle Werte sind in  $\mu\text{g/ml}$  als  $MW \pm SEM$  angegeben.

M/D = Monomer-Dimer-Verhältnis

Krea = Serum-Kreatinin in  $\text{mg/dl}$

	$\kappa$	$\lambda$	$\kappa / \lambda$	M/D $\kappa$	M/D $\lambda$	Krea	n
Kontrollen	0,01 ± 0,0	1,04 ± 1,3	nd	nd	nd	-	15
CNE ohne IST	25,9 ± 3,8	22,5 ± 3,0	1,2	2,0	0,3	2,6	76
CNE mit IST	7,5 ± 1,6 *	11,1 ± 2,9	0,7	2,0	0,2	1,5	24
NTx	8,9 ± 1,7	11,6 ± 1,6	0,8	1,5	0,3	1,9	150

**Tabelle 7:** Freie Leichtketten im Urin von Kontrollen, Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen (CNE) mit und ohne immunsuppressive Therapie (IST) und Nierentransplantierten (NTx). Alle Werte sind in  $\text{mg/24h}$  als  $MW \pm SEM$  angegeben.

M/D = Monomer-Dimer-Verhältnis

Krea = Serum-Kreatinin in  $\text{mg/dl}$

\* = signifikant für  $p < 0,004$  vs. CNE ohne IST

#### 4.4 *Nierentransplantierte Patienten (n=150)*

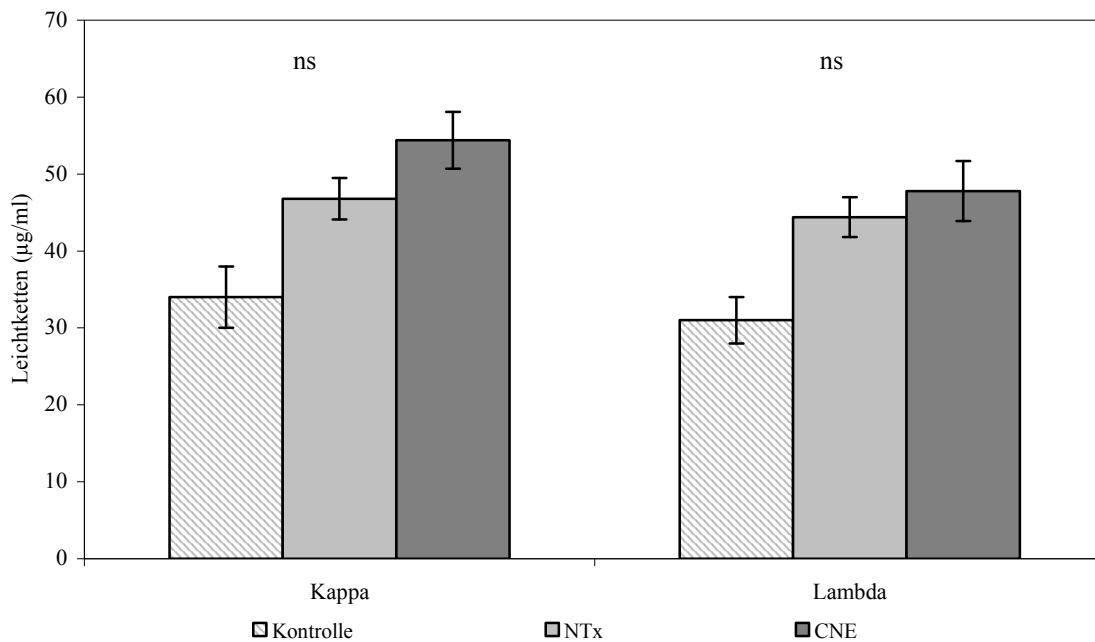
##### 4.4.1 Serum

Die  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten hatten im Serum eine mittlere Konzentration  $47 \pm 3$   $\mu\text{g/ml}$  (MW  $\pm$  SEM).  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten lagen im Mittel bei  $44 \pm 3$   $\mu\text{g/ml}$  (MW  $\pm$  SEM). Das  $\kappa/\lambda$ -Verhältnis betrug 1,1. Das Monomer-Dimer-Verhältnis für  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten war 1,1; für  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten 0,9 (siehe Tabelle 4 und 6).

Im Serum (Abbildung 13a, Tabelle 4) fand sich weder ein signifikanter Unterschied zwischen den  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten der Kontrollen und der Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen (Serum-Kreatinin  $2,3 \pm 1,6$  mg/dl), noch zwischen denen der Kontrollen und denen der NTx-Patienten (Serum-Kreatinin  $1,9 \pm 1,0$  mg/dl). Im Mittel lagen jedoch die Werte der Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen sowohl für  $\kappa$ - als auch für  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten über denen der Nierentransplantierten.

Beide Patientenkollektive zeigten erhöhte Werte der Leichtkettenkonzentrationen im Serum gegenüber Gesunden. Bei den Monomer-Dimer-Quotienten im Serum zeigte sich eine hochsignifikante Differenz ( $p < 0,0001$ ) zwischen den Kontrollen, den Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen und den Nierentransplantierten (siehe Tabelle 4).





*Abb. 13a:* Freie Leichtketten im Serum von Kontrollen, Nierentransplantierten (NTx) und Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen (CNE). Alle Werte sind als  $MW \pm SEM$  angegeben.

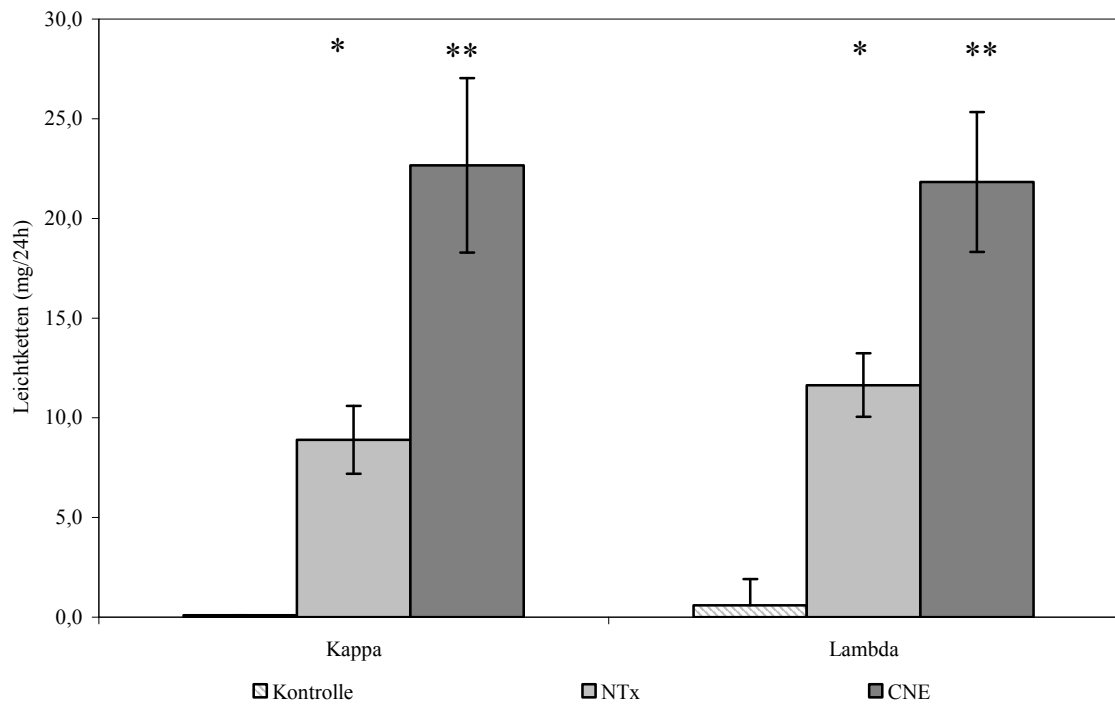
#### 4.4.2 Urin

Die  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentration im Urin der nierentransplantierten Patienten ergab  $9,0 \pm 2,0$  mg/24h bzw.  $2,2 \pm 0,2$  µg/ml. Die  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentration lag durchschnittlich bei  $12,0 \pm 2,0$  mg/24h oder  $4,4 \pm 0,4$  µg/ml.

Es fand sich ein  $\kappa/\lambda$ -Verhältnis von 0,8. Das Monomer-Dimer-Verhältnis betrug für  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten 1,5 und für  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten 0,3 (siehe Tabelle 5 und 7).

Im Urin bestand ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zwischen den Konzentrationen der freien Leichtketten der Gesunden und denen der zwei Patientengruppen. Außerdem war auch die Ausscheidung von  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten bei Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen gegenüber Nierentransplantierten signifikant ( $p < 0,0001$ ) erhöht (Abbildung 13b, Tabelle 5).

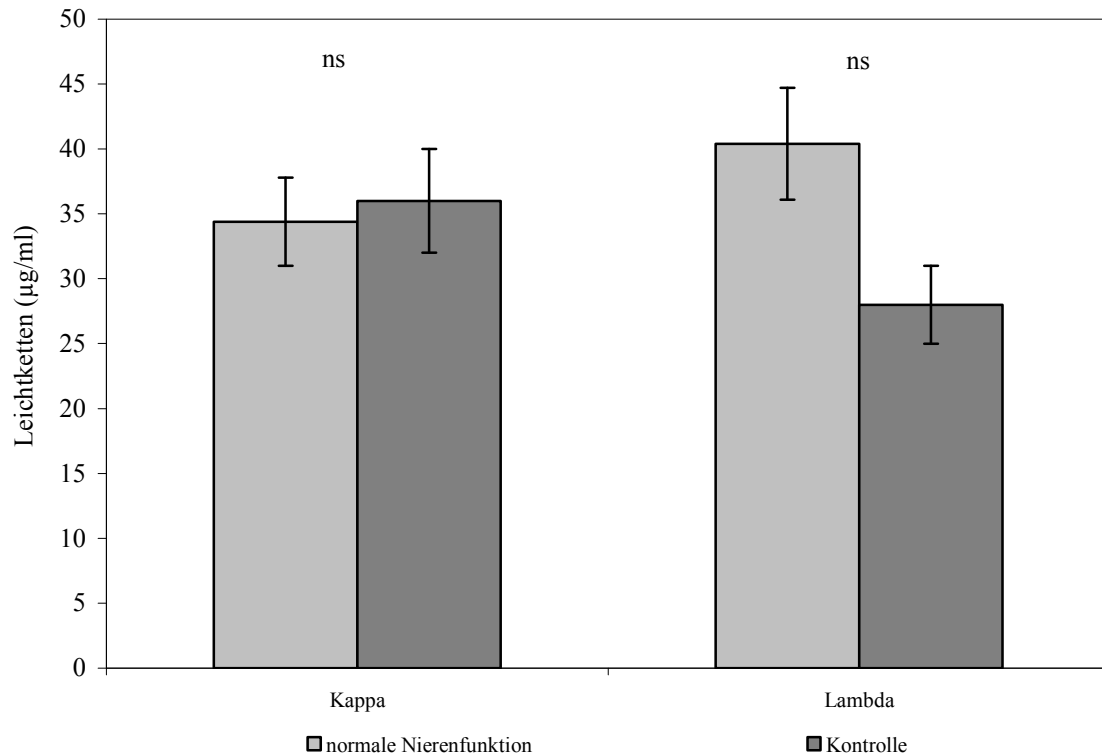
Bei den Monomer-Dimer-Quotienten ließ sich im Urin zwischen den einzelnen Gruppen kein signifikanter Unterschied ausmachen.



**Abb. 13b:** *Freie Leichtketten im Urin von Kontrolle, NTx- und CNE-Patienten (\* =  $p < 0,05$  versus Kontrolle; \*\* =  $p < 0,0001$  vs. NTx). Alle Werte sind als  $MW \pm SEM$  angegeben.*

#### 4.4.3 NTx-Patienten mit normaler Nierenfunktion

Diese Patientengruppe (n=21) hatte bei normalem Serum-Kreatinin (< 1,3 mg/dl) und einer Proteinurie < 0,15 g/24h Serumwerte für  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten von  $34 \pm 3 \mu\text{g/ml}$  und  $40 \pm 4 \mu\text{g/ml}$ . Sie unterschieden sich, wie in Abbildung 14 dargestellt, nicht signifikant von der Kontrollgruppe der Gesunden.

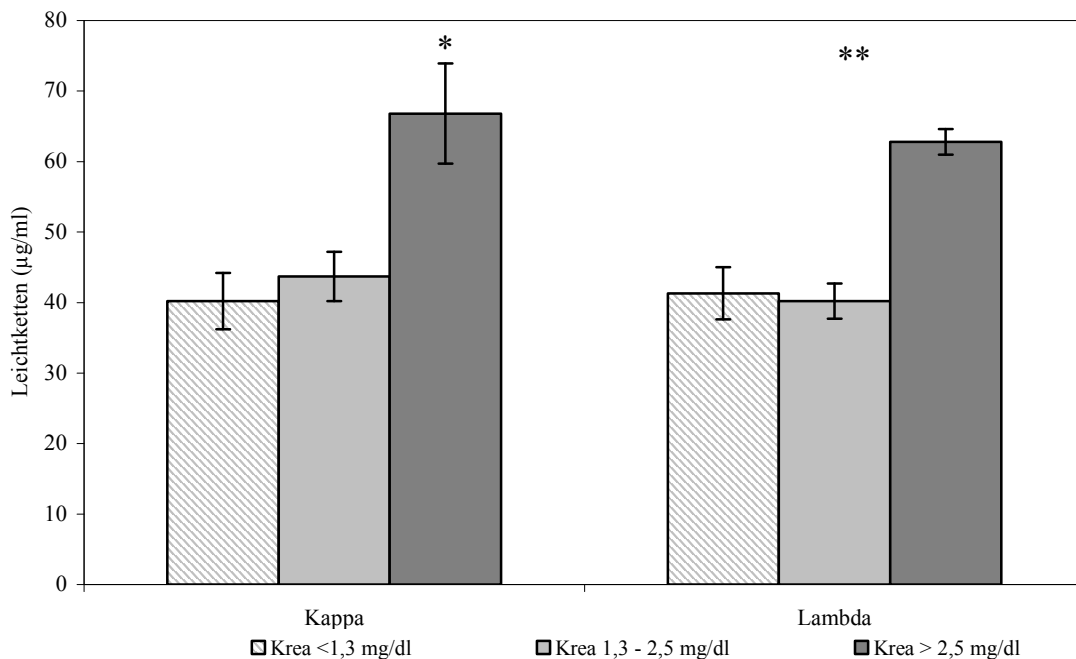


*Abb. 14: Freie Immunglobulinleichtketten im Serum von NTx-Patienten mit normaler Nierenfunktion vgl. mit Kontrollen. Alle Werte sind als  $MW \pm SEM$  angegeben.*

#### 4.4.4 NTx-Patienten mit verschiedenen Graden eingeschränkter Nierenfunktion

Abbildung 15a demonstriert, dass sich die Serumkonzentrationen für  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten von Patienten mit normalem Serum-Kreatinin (n=40) nicht signifikant von denen mit einem Serum-Kreatinin zwischen 1,3 und 2,5 mg/dl (n=84) unterscheiden. Die Leichtkettenkonzentration stieg aber ab einem Serum-Kreatinin von 2,5 mg/dl (n=26) signifikant an ( $p < 0,03$ ;  $p < 0,002$ ).

Im Urin unterschied sich die Ausscheidung von freien Leichtketten bis zu einem Serum-Kreatinin von 2,5 mg/dl ebenfalls nicht. Ab einem Serum-Kreatinin von 2,5 mg/dl stiegen die Leichtkettenkonzentrationen im Urin signifikant an ( $p < 0,0001$ ) (Abbildung 15b).



*Abb. 15a: Freie Leichtketten im Serum von NTx-Patienten in Abhängigkeit vom Serum-Kreatinin (\* =  $p < 0,03$ ; \*\* =  $p < 0,002$ ). Alle Werte sind als  $MW \pm SEM$  angegeben.*

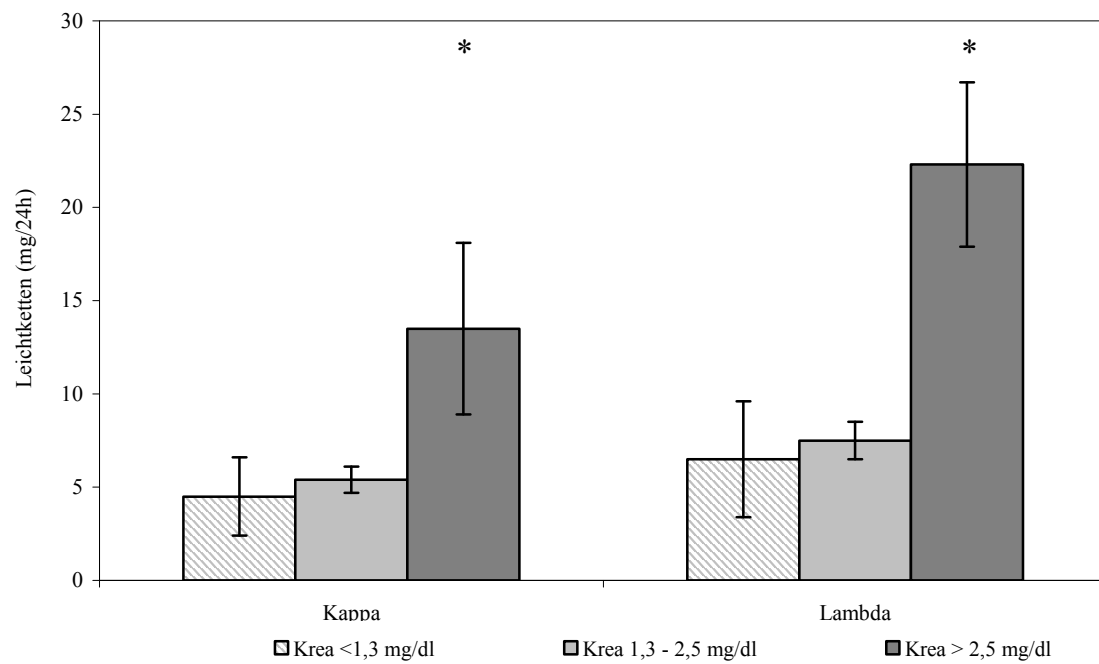
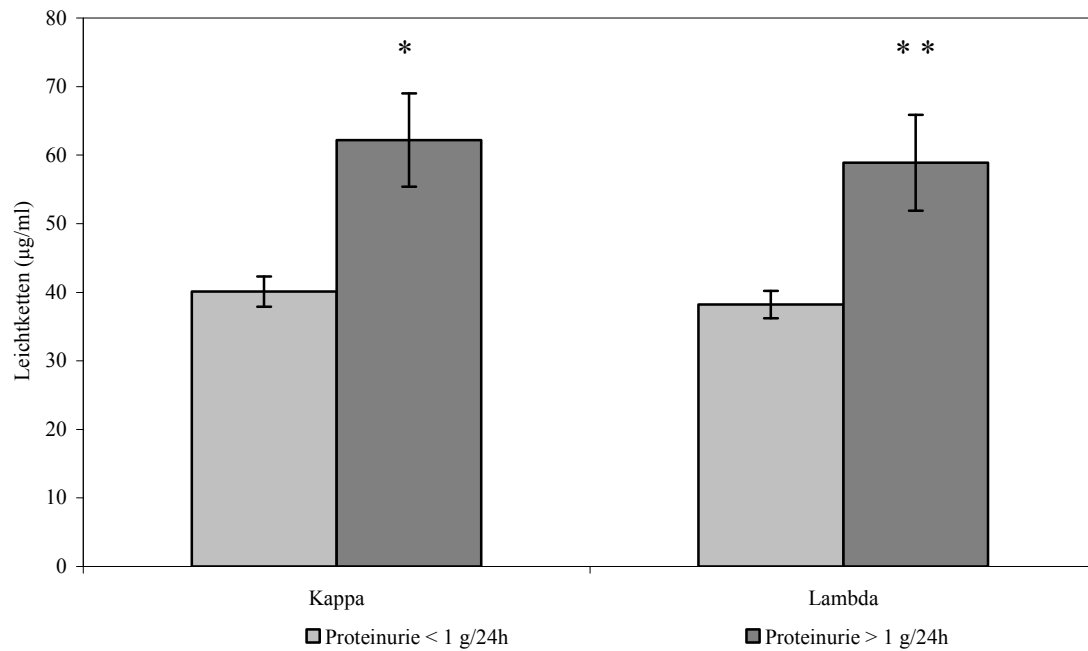


Abb. 15b:

Freie Leichtketten im Urin von NTx-Patienten in Abhängigkeit von Serum-Kreatinin (\* =  $p < 0,0001$ ). Alle Werte sind als  $MW \pm SEM$  angegeben.

#### 4.4.5 NTx-Patienten mit verschiedenen Graden von Proteinurie

Die Unterteilung erfolgte anhand der Proteinurie  $< 1 \text{ g/24h}$  ( $n = 105$ ) und  $\geq 1 \text{ g/24h}$  ( $n = 45$ ). Wie die Abbildungen 16a und b zeigen, stiegen ab einer Proteinurie  $\geq 1 \text{ g/24h}$  die Leichtkettenkonzentrationen in Serum (Abbildung 16a) ( $p < 0,008$ ;  $p < 0,0005$ ) und Urin (Abbildung 16b) ( $p < 0,0001$ ) signifikant an.



*Abb. 16a: Freie Leichtketten im Serum von NTx-Patienten in Abhängigkeit von einer Proteinurie (\* =  $p < 0,008$ ; \*\* =  $p < 0,005$ ). Alle Werte sind als  $MW \pm SEM$  angegeben.*

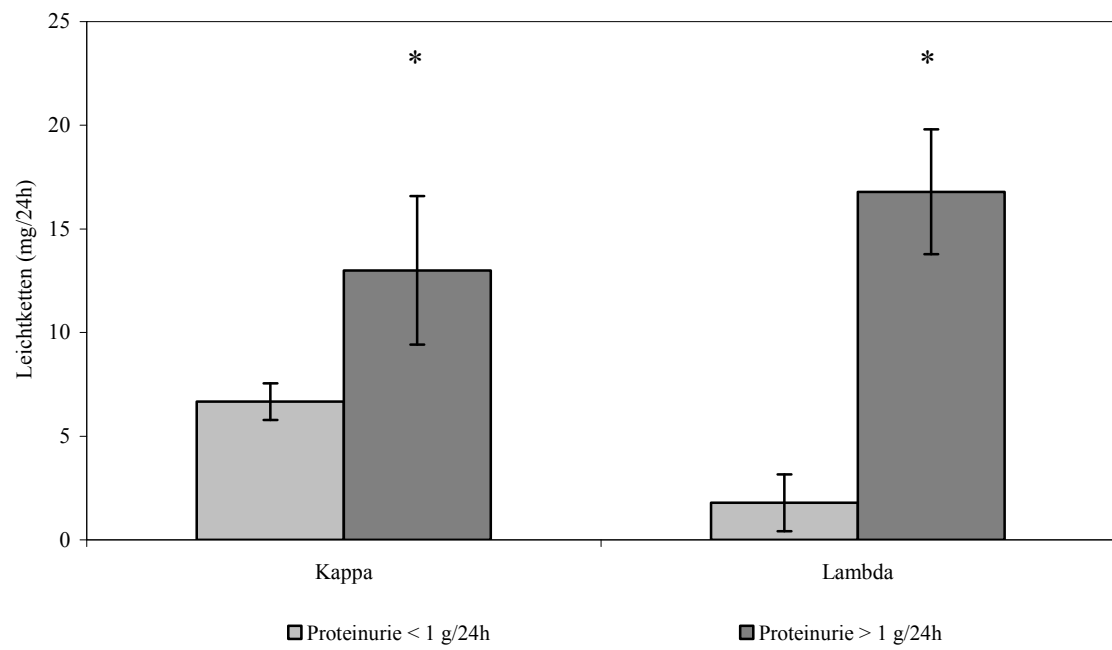
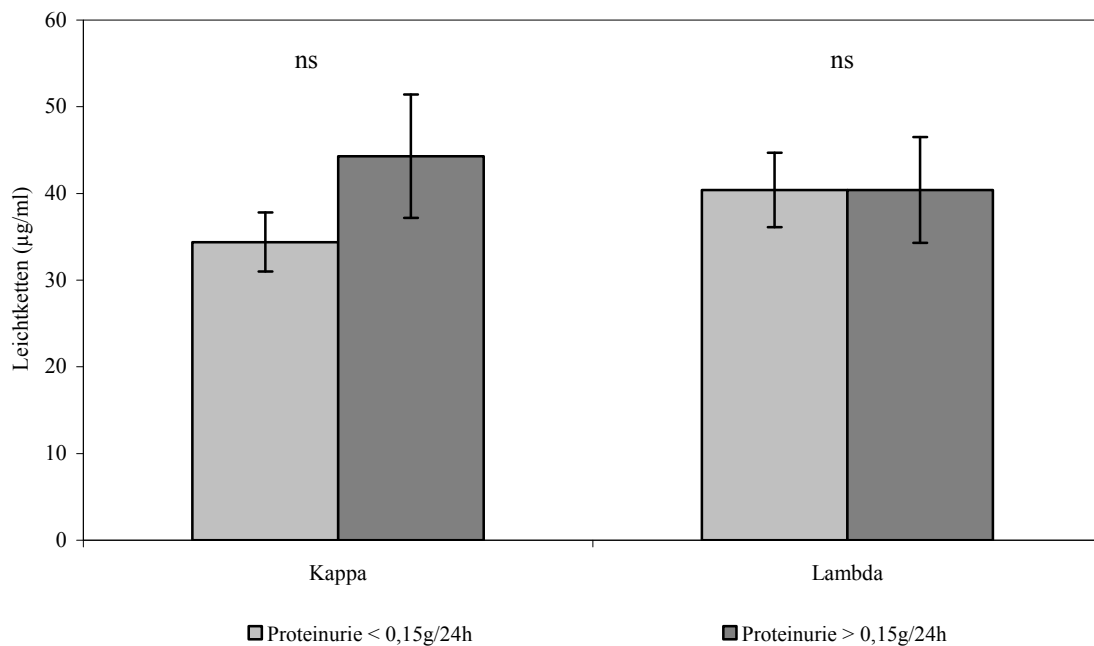


Abb. 16b: Freie Leichtketten im Urin von NTx-Patienten in Abhängigkeit von einer Proteinurie (\* =  $p < 0,0001$ ). Alle Werte sind als  $MW \pm SEM$  angegeben.

#### 4.4.6 NTx-Patienten mit normalem Serum-Kreatinin: mit und ohne Proteinurie

Die Konzentrationen der freien Leichtketten im Serum von Patienten mit normalem Serum-Kreatinin wurden getrennt nach Proteinurie betrachtet. Abbildung 17 zeigt, dass zwischen den  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen kein Unterschied bestand. Die  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen lagen jedoch bei Patienten mit renalem Eiweißverlust geringfügig höher (ns).



*Abb. 17: Freie Leichtketten im Serum von NTx-Patienten mit normalem Serum-Kreatinin: mit und ohne Proteinurie. Alle Werte sind als MW  $\pm$  SEM angegeben.*



#### 4.4.7 Korrelationen

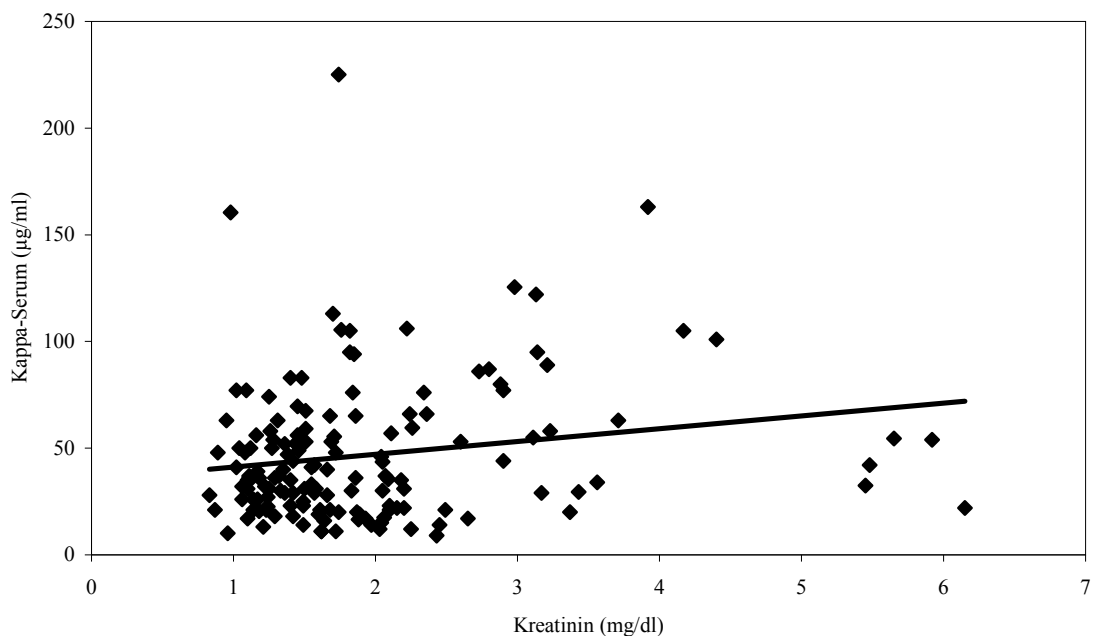
##### 4.4.7.1 Korrelationen mit Geschlecht, Alter und Gewicht

Zwischen Geschlecht, Alter und Gewicht der Patienten und der Konzentration von freien Leichtketten in Serum und Urin bestand keine Korrelation (nicht dargestellt).

##### 4.4.7.2 Korrelation mit Serum-Kreatinin und Kreatinin-Clearance

Die Abbildungen 18a und 18b demonstrieren, dass zwischen Serum-Kreatinin und den Leichtkettenkonzentrationen im Serum keine Korrelation bestand, ebenso wenig für die Kreatinin-clearance (Abbildungen 19a und b). Auch die nach der MDRD-Formel berechnete Kreatinin-clearance zeigte keine signifikante Korrelation (nicht dargestellt).

Zwischen der Ausscheidung von  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten im Urin und dem Serum-Kreatinin bestand nur eine schwache Korrelation ( $r=0,33$ ; ns) (Abbildungen 20a und b). Kreatinin-Clearance und Leichtkettenkonzentrationen im Urin korrelierten noch schwächer miteinander (Abbildungen 21a und 21b).



*Abb. 18a:* Korrelation von Serum-Kreatinin und  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen im Serum ( $r=0,14$ ).

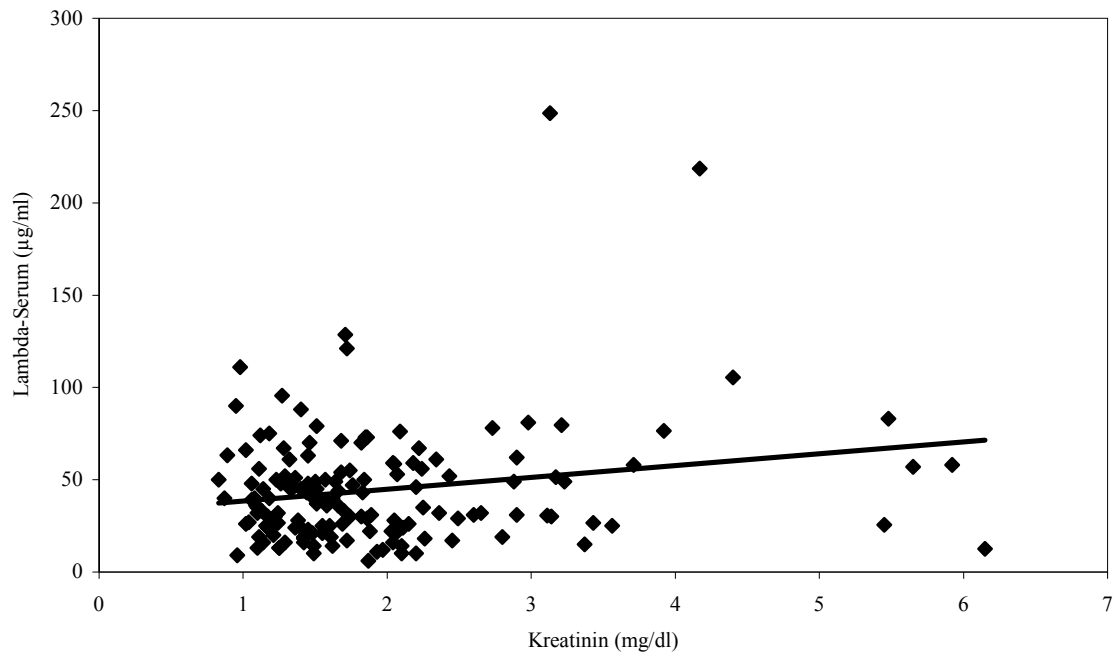


Abb. 18b: *Korrelation von Serum-Kreatinin und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen im Serum ( $r=0,19$ ).*

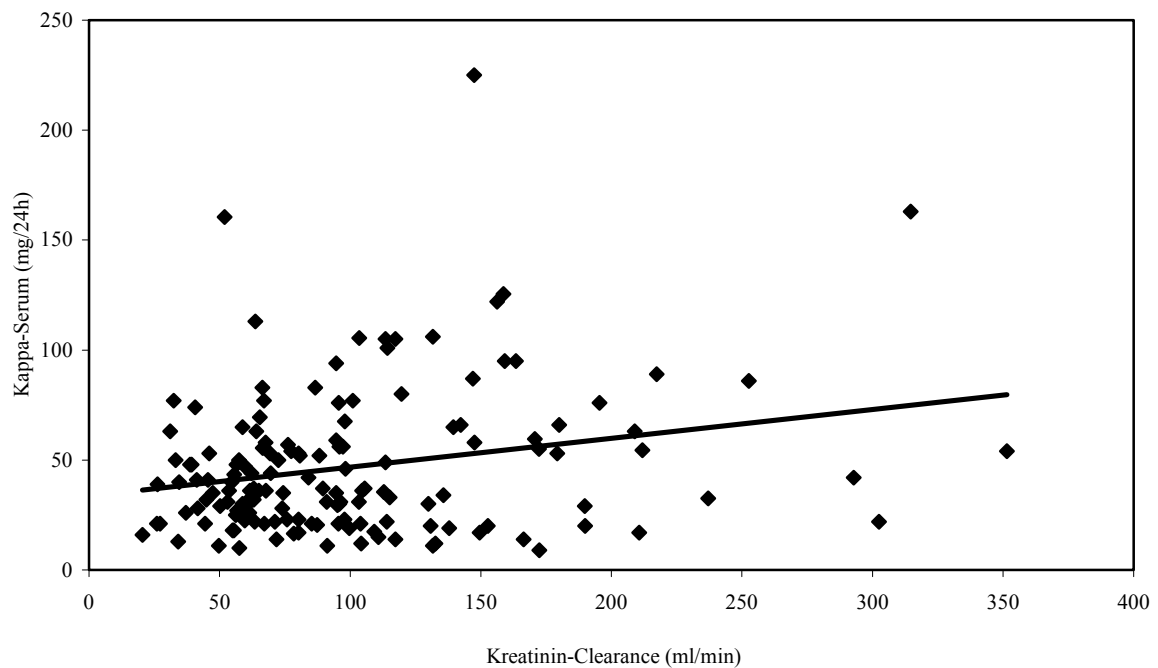


Abb. 19a: *Korrelation von Kreatinin-Clearance und  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen im Serum ( $r = 0,23$ ).*

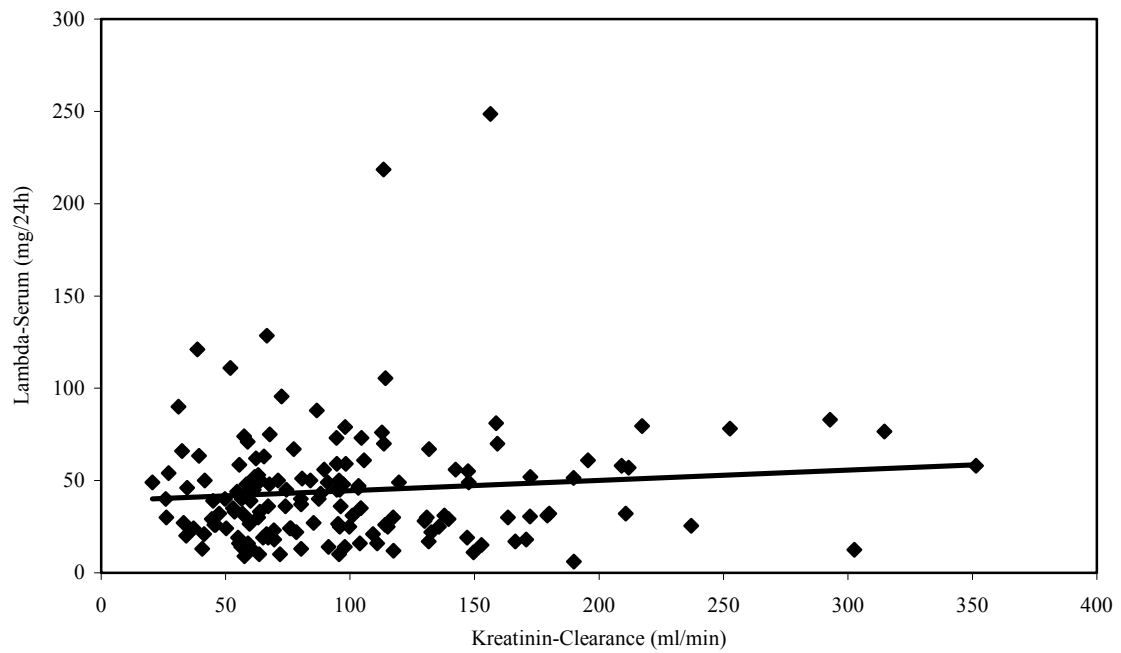


Abb. 19b: Korrelation von Kreatinin-Clearance und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen im Serum ( $r = 0,1$ ).

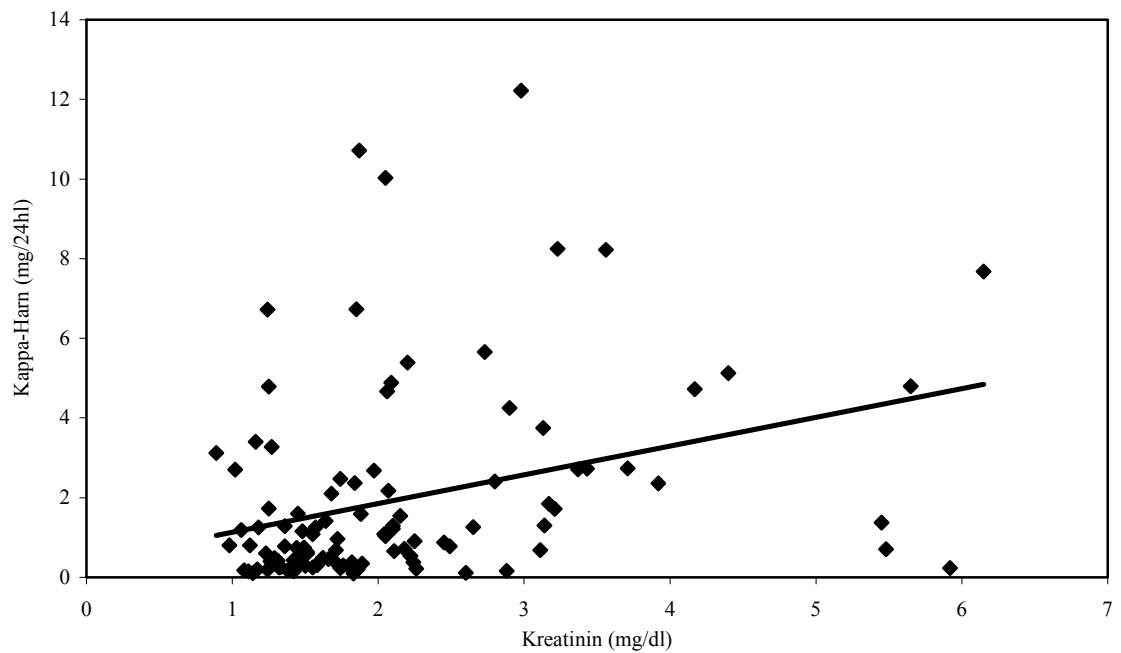
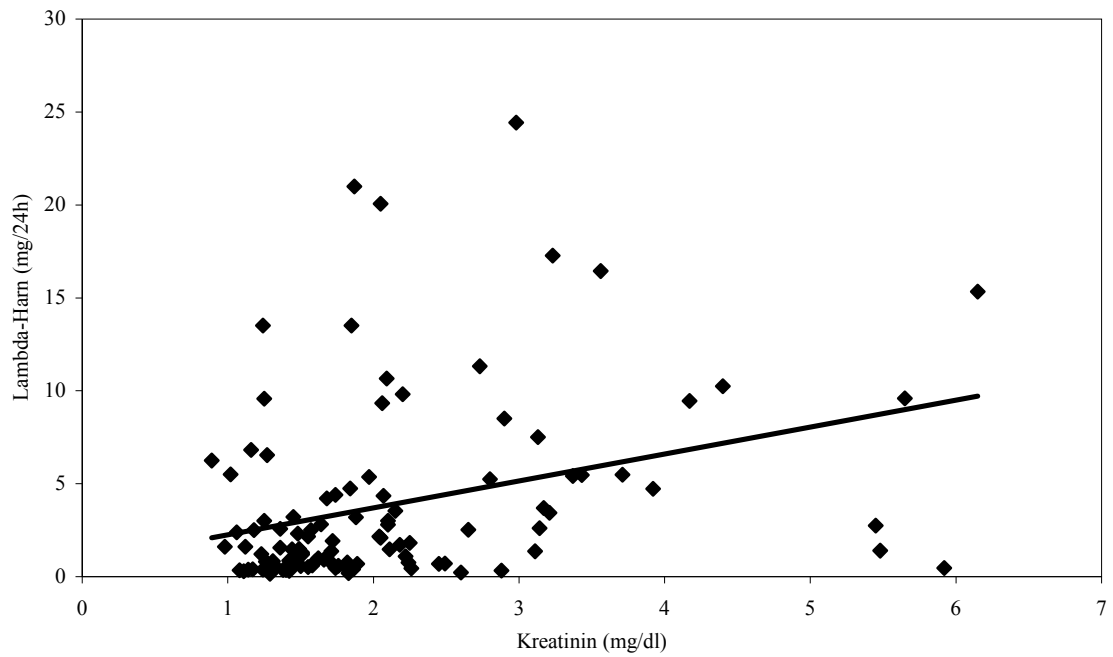
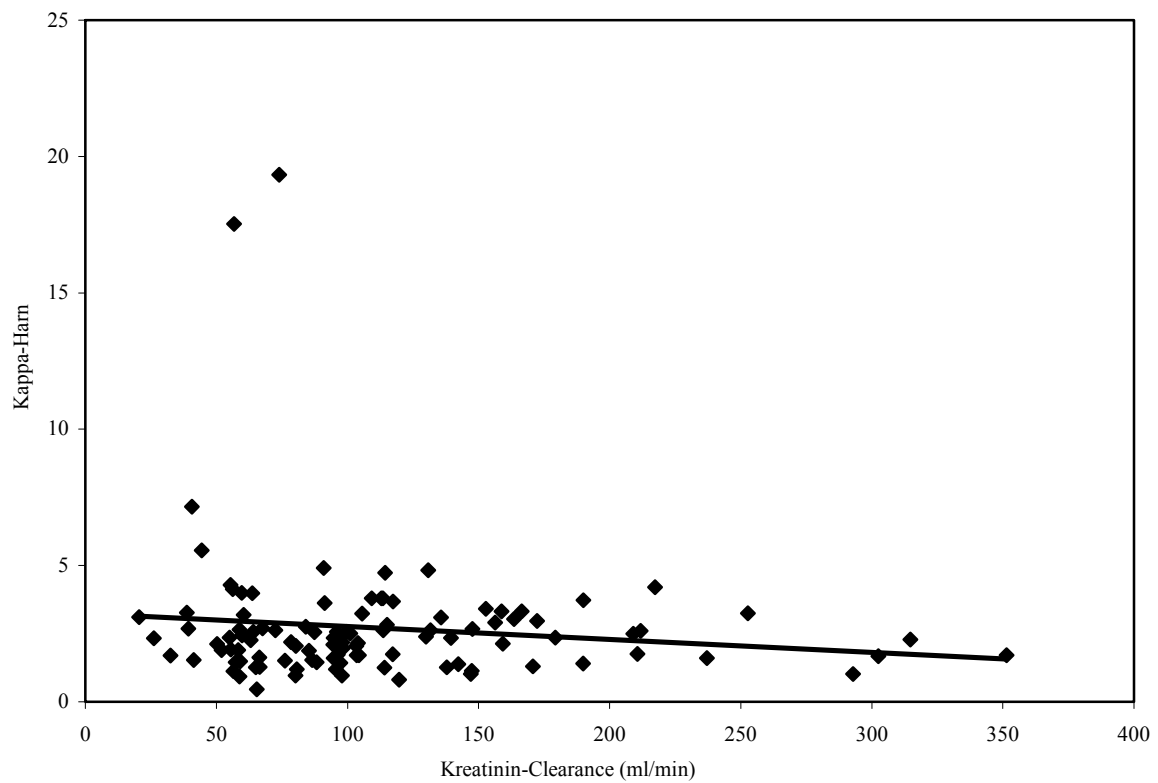


Abb. 20a: Korrelation von Serum-Kreatinin und  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen im Urin ( $r=0,33$ ).



*Abb. 20b:* Korrelation von Serum-Kreatinin und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen im Urin ( $r=0,33$ ).



*Abb. 21a:* Korrelation von Kreatinin-Clearance und  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen im Urin ( $r = 0,12$ ).

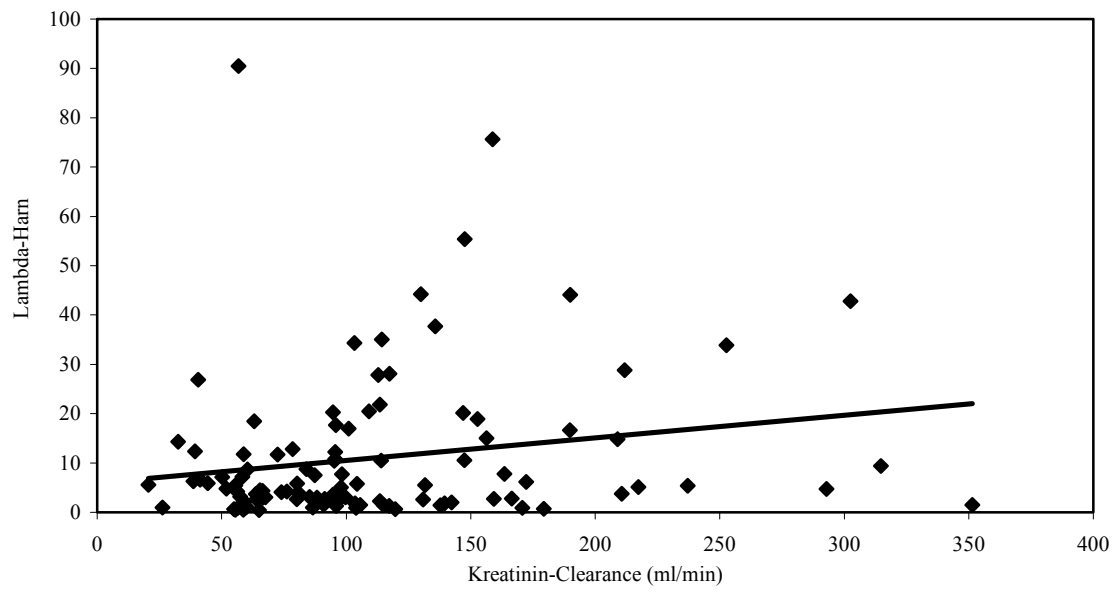


Abb. 21b: *Korrelation von Kreatinin-Clearance und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen im Urin ( $r = 0,19$ ).*

#### 4.4.7.3 Korrelationen mit der Proteinurie

Es fand sich eine nur schwache Korrelation ( $r=0,4$ ; ns) zwischen der Proteinurie und der Exkretion von  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten im Urin (Abbildungen 22a und b).

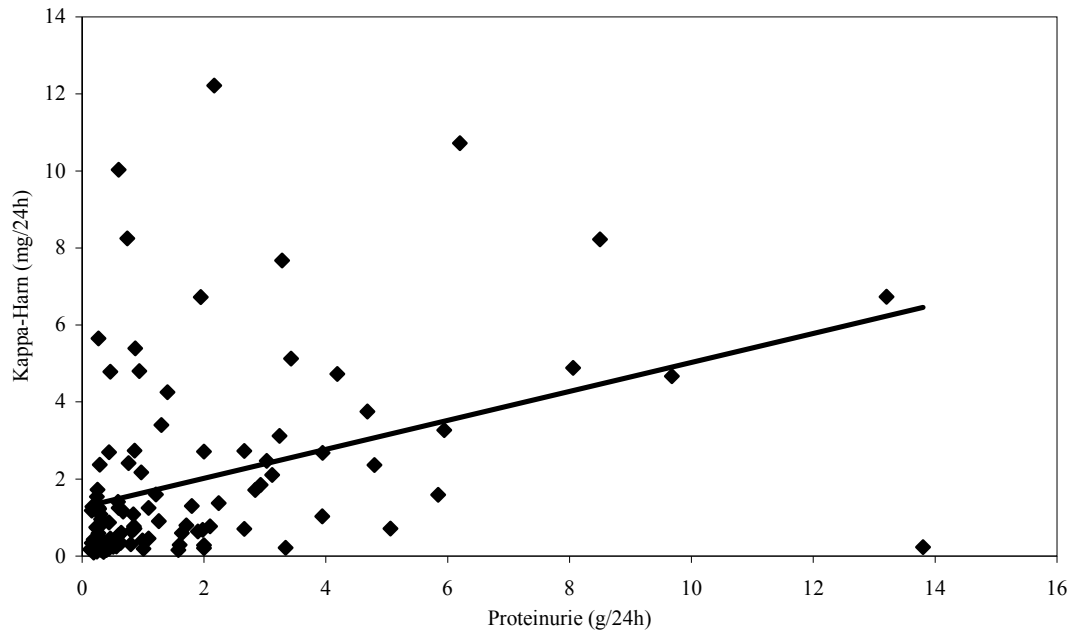
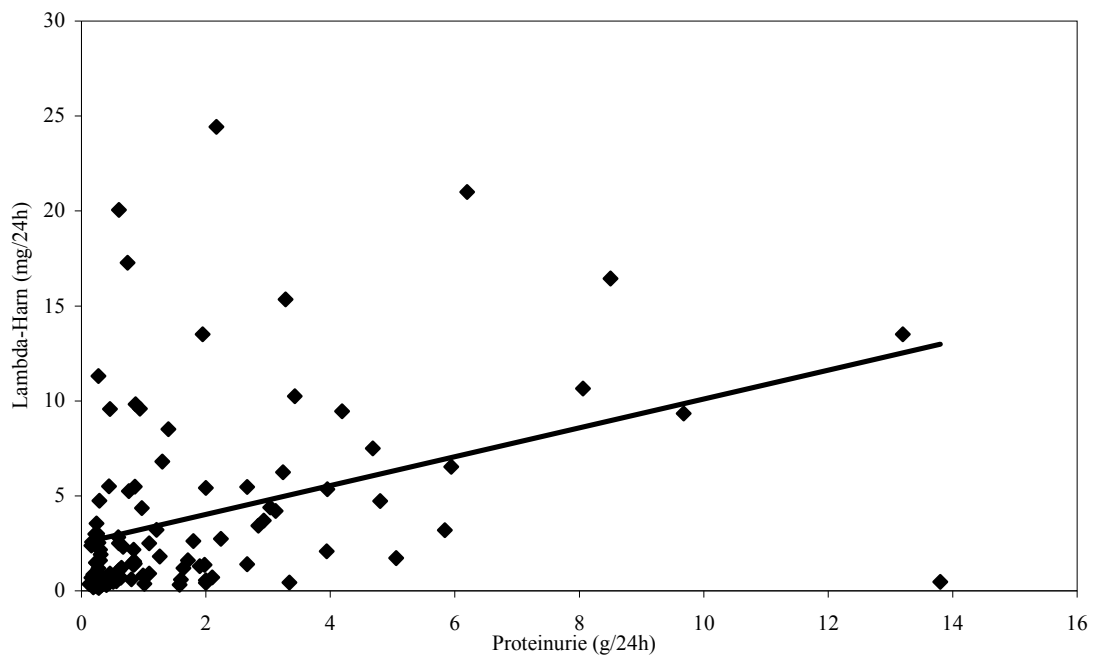


Abb. 22a: Korrelation von Proteinurie und  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen im Urin ( $r=0,4$ ).



*Abb. 22b:* Korrelation von Proteinurie und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen im Urin ( $r=0,4$ ).

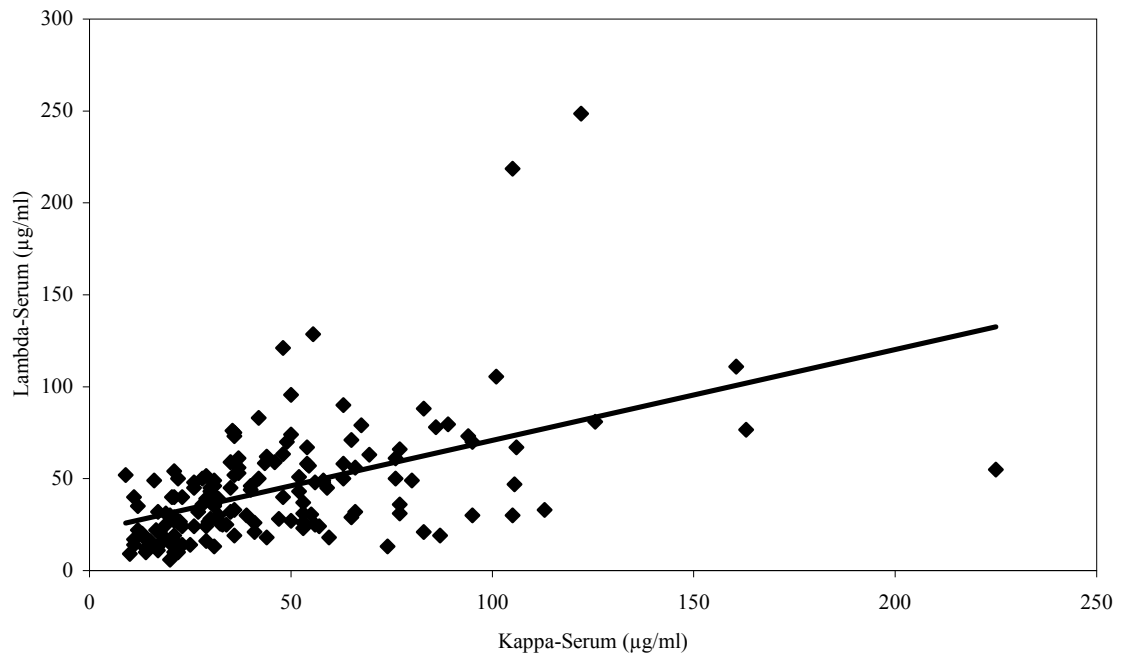
#### 4.4.7.4 Korrelationen zwischen Serum- und Urinkonzentrationen der freien Leichtketten

Es existierte keine Korrelation zwischen dem Serumspiegel und der Ausscheidung von Leichtketten (nicht dargestellt).

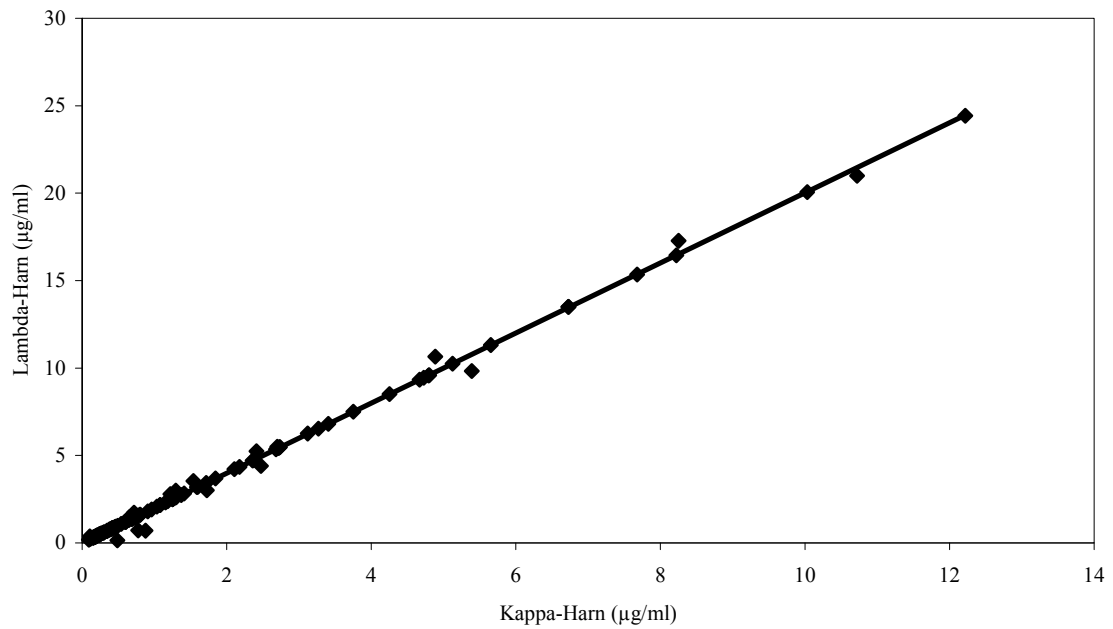
#### 4.4.7.5 Korrelationen der Leichtketten zueinander in Serum und Urin

$\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten korrelierten im Serum deutlich miteinander ( $r=0,56$ ;  $p<0,0001$ ). Diese Beziehung ist in Abbildung 23a dargestellt.

Im Urin ergab sich eine noch deutlichere Korrelation ( $r=0,99$ ;  $p<0,0001$ ) zwischen den beiden Leichtkettentypen (Abbildung 23b).



*Abb. 23a:* Korrelation von  $\kappa$  zu  $\lambda$  im Serum ( $r=0,56$ ;  $p<0,0001$ ).



*Abb. 23b:* Korrelation von  $\kappa$  zu  $\lambda$  im Urin ( $r=0,99$ ;  $p<0,0001$ ).



#### 4.5 Beurteilung nach differenzierter Proteinurie

Mit der oben erwähnten Methode nach Heukeshoven [50] wurde bei den Patienten mit Eiweißverlusten im Urin die Art der Proteinurie bestimmt. Nach dem Bandenmuster ergab sich die Einteilung nach Boesken [95] in vier Gruppen: tubuläre Proteinurie, glomeruläre Proteinurie, Albuminurie und eine Mischform. Von den Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen hatten 17 eine rein tubuläre und vier eine glomeruläre Proteinurie. Zwanzig wiesen eine Mischform auf und zehn schieden nur Albumin aus (siehe Tabelle 8). Bei den Nierentransplantierten lag bei 24 Patienten eine tubuläre Proteinurie und bei 14 eine glomeruläre Proteinurie vor. Dreißig NTx-Patienten boten eine gemischte Proteinurie und 37 verloren nur Albumin über den Urin (siehe Tabelle 9). Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patienten mit unterschiedlichen Proteinurietypen bezüglich der Urinausscheidung von freien Leichtketten.

		Serum ( $\mu\text{g/ml}$ )		Urin ( $\mu\text{g/ml}$ )		Urin (mg/24h)	
Proteinurie	n	$\kappa$	$\lambda$	$\kappa$	$\lambda$	$\kappa$	$\lambda$
tubulär	17	$41 \pm 5$	$44 \pm 11$	$6 \pm 2$	$5 \pm 1$	$14 \pm 5$	$12 \pm 3$
glomerulär	4	$52 \pm 9$	$40 \pm 8$	$8 \pm 3$	$10 \pm 3$	$21 \pm 7$	$29 \pm 11$
gemischt	17	$60 \pm 10$	$52 \pm 7$	$8 \pm 2$	$9 \pm 2$	$21 \pm 5$	$24 \pm 6$
Albuminurie	10	$80 \pm 14$	$68 \pm 18$	$11 \pm 4$	$10 \pm 4$	$26 \pm 9$	$22 \pm 7$

*Tabelle 8: Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen in Serum und Urin von Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen in Abhängigkeit von der Art der Proteinurie. Die Werte sind in  $\mu\text{g/ml}$  bzw. mg/24 h als MW  $\pm$  SEM angegeben.*

		Serum ( $\mu\text{g/ml}$ )		Urin ( $\mu\text{g/ml}$ )		Urin ( $\text{mg}/24\text{h}$ )	
Proteinurie	n	$\kappa$	$\lambda$	$\kappa$	$\lambda$	$\kappa$	$\lambda$
tubulär	24	$44 \pm 4$	$37 \pm 6$	$2 \pm 1$	$5 \pm 1$	$2 \pm 0$	$9 \pm 3$
glomerulär	14	$56 \pm 7$	$47 \pm 6$	$1 \pm 0$	$2 \pm 0$	$5 \pm 0$	$9 \pm 3$
gemischt	30	$56 \pm 6$	$58 \pm 8$	$3 \pm 1$	$6 \pm 1$	$2 \pm 0$	$7 \pm 1$
Albuminurie	37	$59 \pm 7$	$46 \pm 4$	$2 \pm 0$	$3 \pm 1$	$3 \pm 0$	$16 \pm 3$

*Tabelle 9: Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen in Serum und Urin von NTx-Patienten in Abhängigkeit von der Art der Proteinurie. Die Werte sind in  $\mu\text{g/ml}$  bzw.  $\text{mg}/24\text{h}$  als  $MW \pm SEM$  angegeben.*

## 5. DISKUSSION

### 5.1 Methoden

In der vorliegenden Arbeit wurden freie Immunglobulinleichtketten im Serum wie kürzlich beschrieben bestimmt [24]. Dabei wurden Serumproben durch SDS-Gelelektrophorese aufgetrennt und mittels Western Blotting detektiert. Die Analyse von freien Leichtketten im Urin wurde neu etabliert. Die Auftrennung und Detektion der Urinproteine fand ebenfalls durch SDS-Gelelektrophorese und einen spezifischen Antikörper unter Berücksichtigung der speziellen Bedingungen im Urin statt (s. Kapitel 3).

In der Literatur gibt es eine Vielzahl von Angaben zur Quantifizierung von Leichtketten in Serum und Urin [4, 32, 64, 93, 105]. Einige der älteren Methoden verfügen über eine große Streubreite der Ergebnisse und damit eine geringere Aussagekraft [32, 106]. Ein Grund hierfür könnte das Verwenden von Immunoassays sein, die nicht zwischen freien und in Immunglobulin eingebundenen Leichtketten unterscheiden. Die neueren Methoden mit z.T. standardisierten kommerziellen Kits bedienen sich meist der Nephelometrie und gewährleisten eine größere Zuverlässigkeit [11]. Ein weiteres Problem bei der Bestimmung von freien Immunglobulinleichtketten sind die Detektionsgrenzen [4, 11]. Die im Urin von Gesunden extrem niedrigen oder bei einer Proteinurie sehr hohen Proteinkonzentrationen erschweren die exakte Bestimmung der freien Leichtketten, v.a. bei Konzentrationen  $< 50 \mu\text{g/ml}$  [89, 107].

Die hier verwendete Methodik berücksichtigt die potentiellen Fehlerquellen der Leichtkettendetektion. Durch die Auftrennung der Proteine mittels SDS-Gelelektrophorese wurden die Immunglobuline (Molekulargewicht ca. 150 kDa) von den freien Leichtketten in Monomer- (ca. 25 kDa) und in Dimer-Form (ca. 50 kDa) getrennt. Zudem wurden primäre Antikörper verwendet, die sowohl die gebundenen als auch die freien Leichtketten binden können. Durch die vorher durchgeführte Auftrennung wurde eine Überlagerung der Signale verhindert. Es konnte gezeigt werden, dass unter diesen Bedingungen die Immunglobuline intakt bleiben und es nicht zu einer Verfälschung der Ergebnisse durch Dissoziation der Immunglobuline kommt [24]. Es handelte sich bei den hier bestimmten Leichtketten somit um freie Immunglobulinleichtketten.

Die Verwendung eines internen Standards gewährleistete zusätzlich die Konsistenz der Ergebnisse. Vor der Analyse wurden die Leichtkettenkonzentrationen semiquantitativ bestimmt, so dass Standard und gemessene Konzentration in der gleichen Größenordnung lagen und keine Verzerrung durch den Standard stattfinden konnte. Zusätzlich zum internen Standard lief auf jedem Gel ein externer Standard mit. Die Verwendung des etablierten Verfahrens der Chemilumineszenz und die Auswertung der Konzentrationen durch ein Computerprogramm sicherte die Zuverlässigkeit der Methode ab. Zusätzliche Standardisierung war durch die Verwendung des Phast-Gel-Systems gewährleistet. Dabei werden kommerziell produzierte Gele und Laufpufferstreifen verwendet. So reduzieren sich weitere Fehlerquellen.

Für die Bestimmung der Leichtkettenkonzentrationen im Urin wurde der Assay zur Bestimmung im Serum modifiziert. Die Methode zur Detektion freier Leichtketten im Urin wurde in der vorliegenden Arbeit etabliert. Aufgrund der zum Serum verschiedenen Proteinzusammensetzung war eine Interferenz mit Albumin nicht zu befürchten. Daher wurde der beim Serum notwendige Aufreinigungsschritt mit Sepharose nicht benötigt. Trotz des im Gegensatz zum Serum veränderten pHs ließ sich in den Vorversuchen keine Beeinträchtigung der Messwerte nachweisen. Auch hier wurde durch die Verwendung interner Standards ein hohes Maß an Zuverlässigkeit erreicht. In den bisherigen Verfahren stellten die Detektionsgrenzen gerade im Urin ein großes Problem dar. Mit der hier etablierten Methode waren Leichtkettenkonzentrationen im Urin bis zu  $1\mu\text{g/ml}$  messbar. Durch die Sensitivität der Methode war auch keine Konzentrierung des Urins notwendig.

Insgesamt ist die Methode zur Bestimmung freier Immunglobulinleichtketten im Serum und insbesondere im Urin durch Berücksichtigung der potentiellen Fehlerquellen sicher und zuverlässig, aber aufgrund des hohen personellen und zeitlichen Aufwandes nur bedingt als Routinemethode für eine größere Anzahl an Proben geeignet.

## 5.2 Freie Immunglobulinleichtketten im Serum

Nach den hier vorliegenden Untersuchungen ist die Serumkonzentration von Immunglobulinleichtketten sowohl bei Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen als auch bei Patienten nach Nierentransplantation geringfügig, nicht jedoch signifikant im Vergleich zu Gesunden erhöht. Gesunde Individuen hatten Immunglobulinleichtketten (IgLk) im Serum von  $36 \pm 4 \mu\text{g/ml}$  ( $\kappa$ ) und  $31,3 \pm 3 \mu\text{g/ml}$  ( $\lambda$ ). Dagegen wiesen Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen ohne bestehende Dialysepflichtigkeit höhere IgLk im Serum auf:  $54 \pm 4 \mu\text{g/ml}$  ( $\kappa$ ) bzw.  $48 \pm 4 \mu\text{g/ml}$  ( $\lambda$ ). Patienten nach Nierentransplantation lagen zwischen diesen beiden Gruppen mit IgLk-Serumkonzentrationen von  $47 \pm 3 \mu\text{g/ml}$  und  $44 \pm 3 \mu\text{g/ml}$  (s. Tabelle 4, Abb. 13a).

Auch in der Literatur wurden bei kleinen Fallgruppen von Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz und Nierentransplantierten erhöhte Leichtkettenkonzentrationen im Serum gemessen. Bereits 1968 untersuchten Epstein et al. die Leichtkettenkonzentrationen in Serum und Urin vor und nach Nierentransplantation bei 14 Patienten [33]. Vor der Transplantation fanden sich leicht erhöhte Serumspiegel von IgLk. Solling analysierte 1981 mit einem Radioimmunoassay Leichtkettenkonzentrationen im Serum von anephrischen und im Serum und im Urin von nephrotischen Patienten [2]. Die  $\kappa$ - und  $\lambda$ -IgLk-Serumkonzentrationen der anephrischen Patienten stiegen um das fünffache. Dagegen blieben die Serumspiegel der nephrotischen Patienten im Vergleich zur Kontrolle normal. 1991 bestimmten Wakasugi et al. [106] nephelometrisch die Serumkonzentrationen freier IgLk bei HD-, CAPD-Patienten und einer sehr geringen Zahl ( $n=5$ ) an Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen ohne Dialysepflichtigkeit. HD- und CAPD-Patienten fielen durch stark erhöhte  $\kappa$ - und vor allem  $\lambda$ -IgLk-Konzentrationen auf. Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen hatten gegenüber Gesunden leicht erhöhte Werte. Auch Cohen et al. fanden 2002 [24] bei einer kleinen Anzahl von Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen ( $n=10$ ) gesteigerte Serumwerte für Immunglobulinleichtketten. Die Fallzahlen dieser Studien waren jedoch sehr gering. Dennoch weisen sie alle dieselbe Tendenz auf, die auch in der vorliegenden Untersuchung an einer deutlich größeren Fallzahl festgestellt werden konnte.

Offen bleibt, ob sich dieser leichte Anstieg durch verminderte Exkretion oder durch gesteigerte Synthese der IgLk erklärt. Eine verminderte Exkretion könnte in der Ein-

schränkung der Nierenfunktion, insbesondere der glomerulären Filtration und der tubulären Rückresorption, begründet sein. In der Niereninsuffizienz akkumulieren eine Vielzahl von körpereigenen Substanzen und Urämietoxinen [29, 86, 103, 104, 111]. Da freie Leichtketten jedoch, wenn auch in einer geringen Konzentration, bei Gesunden im Harn erscheinen und aufgrund ihres geringen Molekulargewichtes den glomerulären Filter leichter passieren können, erscheint ein Defekt des tubulären Apparates als Grund der vermehrten Ausscheidung freier Immunglobulinleichtketten plausibel. Auch andere Urämietoxine, wie z.B. das  $\beta_2$ -Mikroglobulin, gelten als Marker tubulärer Schäden [95]. Gegen einen reinen Überlaufmechanismus, der durch vermehrte glomeruläre Filtration und nicht ausreichende tubuläre Resorption entsteht, spricht jedoch die fehlende Korrelation von Serum- und Urinkonzentrationen freier Leichtketten

Die gesteigerte Synthese freier Immunglobuline und damit auch freier Immunglobulinleichtketten bei chronischer Niereninsuffizienz erscheint zunächst paradox, da dabei im Allgemeinen eine verminderte Abwehrlage vorliegt [44]. Neben einer verminderten Impfantwort [14, 15, 38, 99] und einer geringeren Anzahl an Abstoßungsreaktionen bei Hauttransplantationen [73] deutet die große Zahl der infektiösen Komplikationen bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz auf ein gestörtes Immunsystem hin [37]. Obwohl dafür auch eine fehlregulierte Granulozytenfunktion, verursacht durch Urämietoxine wie z.B. freie IgLk, ursächlich sein könnte [21, 23], lässt sich doch ein komplexeres Zusammenspiel der Abwehrmechanismen vermuten. Es gibt Hinweise, dass gerade bei der Immunodefizienz chronisch Niereninsuffizienter eine Aktivierung von Zellen des Immunsystems vorliegt [28]. Zudem könnten die Immunglobuline ebenfalls in ihrer Funktion inhibiert sein und daher in größeren Mengen produziert werden. Das würde ebenfalls einen konsekutiven Anstieg freier Immunglobulinleichtketten hervorrufen. Denkbar wäre auch eine gesteigerte Immunglobulinleichtkettensynthese, die kompensatorisch bei renalem Proteinverlust in der Niereninsuffizienz stattfände.

### 5.3 $\lambda$ - und $\kappa$ - Mono- und Dimere

Polyklonale Leichtketten existieren im Serum und Urin gesunder Individuen in Form von Mono-, Di- oder Polymeren [78]. Normalerweise sind bei Gesunden mehr Monomere als Dimere vorhanden, im Verhältnis von ca. 2,0 für  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten und 1,5 für  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten [68]. In der vorliegenden Untersuchung fiel bei chronisch nierenkranken Patienten das Monomer/Dimer-Verhältnis für  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten von 2,1 bei der Kontrollgruppe auf 0,8 ab und bei nierentransplantierten Patienten auf 0,9. Dagegen sank das Monomer-/Dimer-Verhältnis für  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten nur von 1,5 auf 1,0 bzw. 1,1. Ursache für den Abfall des Monomer/Dimer-Verhältnisses bei Niereninsuffizienz ist ein Abfall der renalen Clearance für Dimere. Der größere Abfall des Monomer-/Dimer-Verhältnisses für  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten im Serum ist wahrscheinlich durch die niedrigere renale Clearance für  $\lambda$ -Dimere bei fortgeschrittener Niereninsuffizienz im Vergleich zu  $\kappa$ -Dimeren bedingt (Tabelle 4). Hierbei ist zu berücksichtigen, dass die  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten häufiger in dimerer Form vorliegen als die  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten.

Bei Gesunden beträgt das Verhältnis von  $\kappa$ - zu  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten 1,1 [68], da die Serumkonzentration von  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten etwas höher ist als die der  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten. In der vorliegenden Studie entsprach das  $\kappa/\lambda$ -Verhältnis der Kontrollgruppe dem der Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen und dem nierentransplantierten Patienten (Tabelle 4). Dagegen haben Hämodialysepatienten ein niedrigeres  $\kappa/\lambda$ -Verhältnis von 0,8. Ursache für den Abfall ist der Anstieg der  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten bei fortschreitender Niereninsuffizienz. Während die Immunglobulinleichtketten vom  $\kappa$ -Typ sich nur verdoppelten (von  $34 \pm 4$  auf  $70 \pm 6$   $\mu\text{g/ml}$ ), erhöhten sich die freien  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten um das dreifache (von  $31 \pm 3$  auf  $87 \pm 6$   $\mu\text{g/ml}$ ) in der Hämodialysegruppe [21]. Dieser Unterschied ließe sich möglicherweise durch die Besonderheiten der Dialysemembranen erklären. [21].

#### ***5.4 Freie Immunglobulinleichtketten im Urin***

In der vorliegenden Studie stieg mit zunehmender Einschränkung der Nierenfunktion die Urinkonzentration freier Leichtketten sowohl bei chronisch niereninsuffizienten Patienten als auch bei nierentransplantierten Patienten an. Die Kontrollpersonen hatten sehr geringe Leichtkettenkonzentrationen im Urin ( $\kappa$  0,01 mg/24 h;  $\lambda$  1,04 mg/24 h). Die Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen hatten davon signifikant unterschiedliche mittlere Urin-Leichtketten-Konzentrationen von 22,7 mg/24 h bzw. 21,8 mg/24h für  $\kappa$  und  $\lambda$  (Tabelle 5). In diesem Kollektiv konnte ein signifikanter Anstieg der Urinkonzentrationen proportional zu den Serum-Kreatinin-Werten verzeichnet werden (s. Abb.4b, Abb.9a,b).

Die Urin-Leichtketten-Konzentrationen bei Nierentransplantierten unterschied sich ebenfalls signifikant von denen der Kontrollgruppen ( $\kappa$  8,9 mg/24 h und  $\lambda$  11,6 mg/24 h) wie auch von denen der chronisch Nierenkranken. Ab einer Serum-Kreatinin-Konzentration von 2,5 mg/dl stieg auch die Leichtkettenausscheidung in diesem Kollektiv signifikant an.

Dabei werden sowohl  $\kappa$ - als auch  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten in beiden Patientengruppen gleichmäßig vermehrt ausgeschieden (Tabelle 5). Bei den Kontrollpersonen fand sich für  $\kappa$ -Immunglobulinleichtketten eine geringere Ausscheidung als für  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten. Dies steht im Gegensatz zur Literatur [90]. Diese vermehrte Ausscheidung könnte durch die erhöhte Serumkonzentration und die damit verbundene erhöhte glomeruläre Filtration, die die Resorptionskapazitäten übersteigt, verursacht sein. Zudem ist bei steigender Proteinurie ( $\geq 1\text{g}/24\text{h}$ ) sowohl bei den CNE- als auch bei den NTX-Patienten eine steigende Exkretion freier Immunglobulinleichtketten zu verzeichnen. Dazu könnte es durch eine Konkurrenz mit anderen Proteinen um die tubuläre Resorption kommen [100, 109]. Wie bereits diskutiert, erscheint ein Überlaufmechanismus aber nur z.T. als ausreichende Erklärung, da Serum- und Urinkonzentrationen der freien IgLk nicht korrelieren. Vorstellbar wäre auch eine vermehrte Exkretion im Rahmen der erhöhten Serumkonzentrationen als Schutzmechanismus vor dem Urämietoxin. Zudem konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass die quantitative Ausscheidung freier Immunglobulinleichtketten unabhängig von der Art der Proteinurie ist (Tabelle 8, 9). Gerade bei tubulären Schädigungsmustern kam es zu keiner erhöhten



Ausscheidung freier Leichtketten. Auch die Form der Grunderkrankung spielt ausgehend von diesen Daten keine signifikante Rolle für die Leichtkettenexkretion. Dies spricht wiederum für einen Mechanismus, der spezifisch für den Zustand der Urämie ist, unabhängig von den pathophysiologischen Ausgangsbedingungen.

### 5.5 Einfluss der Nierenfunktion

Die Patientengruppen wurden nach ihrer Nierenfunktion weiter unterteilt: Bei Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen vor Dialysepflichtigkeit hatte der Grad der Niereninsuffizienz keinen Einfluss auf die Serumkonzentration freier Immunglobulinleichtketten (Abb. 4a). Im Urin jedoch stiegen die  $\kappa$ - und  $\lambda$ - Immunglobulinleichtkettenkonzentrationen mit Erhöhung des Serumkreatinins an. Dies konnte erstmals gezeigt werden (Abb. 4b). Bei den Nierentransplantierten mit normaler Nierenfunktion (Serum-Kreatinin  $< 1,3$  mg/dl) unterschieden sich die Serumkonzentrationen der freien IgLk nicht von denen der Kontrollen (Abb. 14). Ab einem Serum-Kreatinin von 2,5 mg/dl hingegen stiegen sowohl im Serum als auch im Urin die IgLk-Konzentrationen signifikant an (Abb. 15a).

Die Einschränkung der Nierenfunktion könnte zu einer verminderten Resorption und/oder einem gesteigerten Katabolismus von Immunglobulinleichtketten durch die Zellen des proximalen Tubulusepithels führen. Die Folge wäre eine vermehrte Urinausscheidung freier Leichtketten. Durch einen solchen Mechanismus würde der Anstieg freier Immunglobulinleichtketten im Serum bei abnehmender Nierenfunktion reduziert oder ganz verhindert. Damit wäre der nicht signifikante Anstieg der freien Immunglobulinleichtketten bei Niereninsuffizienz in der vorliegenden Arbeit erklärt. Fermin et al. diskutierten bereits 1974 über eine mögliche peritubuläre Sekretion freier IgLk [36]. Es wäre möglich, dass dieser Mechanismus bei eingeschränkter Nierenfunktion durch protektive Faktoren oder Urämietoxine aktiviert wird, um den Organismus vor den negativen Effekten zu hoher IgLk-Konzentrationen wie z.B. verminderter Immunkompetenz zu schützen.

### 5.6 Einfluss der Proteinurie

Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen und einer Proteinurie von über 1 g/24h hatten eine höhere Ausscheidung von  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten im Urin als Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz und einer Proteinurie von unter 1g/24h (Abb. 5b). Es fand sich jedoch keine Korrelation zwischen der Proteinurie und der Urinausscheidung von Immunglobulinleichtketten bei Patienten mit einer Proteinurie von über 1 g/24h (Abb. 11c,d). Auch der Serum-Kreatininwert war erwartungsgemäß nicht mit dem Grad der Proteinurie korreliert. Möglich wäre, dass bei höherer Proteinurie vermehrt andere Proteine ausgeschieden werden – außer den Leichtketten – und damit die Korrelation „verwischt“ würde. Diese fehlende Korrelation könnte auch erklären, warum kein Unterschied zwischen den Serum-Immunglobulinleichtketten-Konzentrationen von CNE-Patienten bei höherer oder niedriger Proteinurie vorliegt. Wenn man jedoch nur Patienten mit einer Proteinurie von unter 1 g/24h. betrachtet (Abb. 11 a,b), so findet sich eine eindeutige Korrelation zwischen  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten-Ausscheidung und Proteinurie. Bei diesen Patienten ist wahrscheinlich die Ausscheidung anderer Proteine in der Relation zur Gesamt-Proteinurie geringer. Damit wäre auch die absolute Menge an  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten im Urin geringer, hätte aber größeren Anteil an der Gesamt-Proteinurie. Umgekehrt ist wegen der insgesamt geringeren Ausscheidung an freien Leichtketten im Urin kein Zusammenhang zwischen Immunglobulinleichtketten-Konzentration im Serum und Urin nachweisbar (nicht dargestellt). Wie bereits diskutiert (Kapitel 5.4), konnte kein Einfluss des Proteinuriemusters auf die quantitative Leichtkettenausscheidung im Urin nachgewiesen werden.

### 5.7 Einfluss der Immunsuppression

Sowohl ein Teil der Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen (n=24) als auch alle Patienten nach Nierentransplantation (n=150) erhielten eine immunsuppressive Therapie. Die nierentransplantierten Patienten unterschieden sich in den Ergebnissen von den chronisch niereninsuffizienten Patienten ohne immunsuppressive Therapie. Ab einem Serum-Kreatininwert über 2,5 mg/24h stiegen  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten im Serum der NTx-Patienten trotz einer Zunahme der Urinausscheidung signifikant an (Abb.15a). Diese Mehrausscheidung der Immunglobulinleichtketten im Urin nierentransplantierten Patienten ist jedoch im Vergleich zu chronisch niereninsuffizienten Patienten auf der Basis gleicher Kreatininwerte im Serum geringer. Hieraus könnte sich erklären, dass bei chronisch niereninsuffizienten Patienten nur eine tendenzielle Erhöhung der Serum-Immunglobulinleichtketten-Werte vorliegt, bei nierentransplantierten Patienten diese Steigerung jedoch signifikant wird. Im Gegensatz zu den chronisch niereninsuffizienten Patienten gab es keine Korrelation zwischen Serum-Kreatinin und Urinexkretion freier Leichtketten bei nierentransplantierten Patienten. Diese fehlende Korrelation könnte zum einen durch den Rückgang der freien Immunglobulinleichtketten-Ausscheidung bei Transplantierten verursacht sein, zum anderen jedoch auch durch eine Hemmung der Leichtkettenproduktion durch die Immunsuppression.

Ferner zeigten die nierentransplantierten Patienten mit einer Proteinurie über 1 g/24h einen Anstieg der Serumkonzentration von Immunglobulinleichtketten trotz höherer Urinausscheidung im Vergleich zu Patienten mit einer Proteinurie unter 1g/24h. (Abb. 16a). Diese Daten könnten darauf hinweisen, dass eine starke Proteinurie mit der effektiven Reduktion der Immunglobulinleichtketten-Produktion durch Immunsuppression interferiert. Interessanterweise liegen sowohl die Serum- als auch die Urinleichtkettenkonzentrationen bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz und immunsuppressiver Therapie auf gleicher Höhe wie bei nierentransplantierten Patienten, so dass in zwei verschiedenen immunsuppressiven Modellen der Nachweis geführt werden konnte, dass die Immunsuppression die Serum- und Urinleichtkettenkonzentrationen vermindert.

Die  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Leichtkettenkonzentrationen korrelieren eng mit der Immunglobulinproduktion. Der Katabolismus von Immunglobulin G ist der Hauptmechanismus der Immunregulation zur Aufrechterhaltung des Antikörperspiegels [52]. Viele Immun-

suppressiva greifen in die Regulation der Immunglobuline ein. Daher könnte die Immunsuppression auch den Katabolismus der Leichtketten beeinflussen. Es gibt Hinweise in der Literatur, dass die Synthese freier IgLk durch Prednisolon [91] und Cyclosporin A [69] moduliert werden kann.

Ähnliche Ergebnisse weist auch eine Arbeit von Epstein et al. auf [33]. Bei 14 Patienten konnte nach einer Nierentransplantation mit Einsetzen der Immunsuppression ein Abfall der vorher erhöhten IgLk-Konzentrationen im Serum beobachtet werden. Zeitgleich mit bei einigen Patienten beobachteten Abstoßungsreaktionen kam es zu einem Wiederanstieg freier Leichtketten in Serum und Urin. Die Autoren schlugen die Verwendung freier Leichtketten als prognostischen und diagnostischen Marker nach Nierentransplantation vor.

Interessanterweise ist die Ausscheidung freier Urin-Immunglobulinleichtketten bei erhöhter B-Zellaktivität, z. B. bei Patienten mit systemischen Lupus erythematodes, gesteigert [52]. Auch bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz findet sich eine B-Zellaktivierung [28]. Die Immunsuppression resultiert in einer Verminderung der B-Zellaktivität. Das könnte wenigstens teilweise erklären, warum die Ausscheidung freier Immunglobulinleichtketten bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz und gleichzeitiger immunsuppressiver Therapie geringer ist im Vergleich zu Patienten ohne Immunsuppression (Tabelle 7). Auch bei Patienten nach Nierentransplantation mit entsprechender immunsuppressiver Therapie ist die Urinausscheidung freier Immunglobulinleichtketten niedriger als bei Kontrollen und chronisch niereninsuffizienten Patienten ohne Immunsuppression (Abb. 12b). Ob es eine darüber hinausgehende Wirkung von Immunsuppressiva auf den renalen Metabolismus freier Immunglobulinleichtketten gibt, muss in folgenden Studien untersucht werden.

### 5.8 *Klinische Bedeutung*

Freie Immunglobulinleichtketten spielen bei unterschiedlichen immunologischen Erkrankungen bereits eine wichtige Rolle als klinische Verlaufs- und Aktivitätsparameter, wie bei AL-Amyloidose [61] und Multiplem Myelom [64], in experimentellen Ansätzen bei systemischem Lupus erythematoses [51, 98], multipler Sklerose [71] und HIV [32]. Frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass freie Immunglobulinleichtketten wichtige Funktionen polymorphkerniger neutrophiler Leukozyten verändern [21, 24]. Bei niereninsuffizienten Patienten im Prädialyse- und Dialysestadium konnte gezeigt werden, dass die Infektionsrate gesteigert und auf der anderen Seite die Impfantwort reduziert ist [44]. Hier könnten sich wichtige klinische Zusammenhänge erschließen. Dass freie Immunglobulinleichtketten in der Niereninsuffizienz akkumulieren, konnte in dieser Arbeit gezeigt werden.

Die möglichen renalen Komplikationen erhöhter Leichtkettenexkretion in der Niereninsuffizienz bleiben letztlich unklar. Die Rolle freier Immunglobulinleichtketten bei verschiedenen, nicht nur lymphoproliferativen Erkrankungen, weist jedoch auf eine potentielle Aggravation der Niereninsuffizienz durch vermehrte Exkretion freier Leichtketten hin. Es gilt als gesichert, dass Myelom-Immunglobulinleichtketten in Kulturen menschlicher proximaler Tubuluszellen zu Zelluntergang und Kernschädigung führen [79]. Die Leichtketten hemmen die Proliferation und führen zu einer signifikanten DNA-Degradation. Ferner konnte gezeigt werden, dass bei Zellen, die Immunglobulinleichtketten ausgesetzt sind, die indizierbare NO-Synthase gesteigert ist, was darauf hinweisen könnte, dass die Leichtkettentoxizität durch oxidativen Stress verursacht wird [112]. Kritisch angemerkt werden muss hier jedoch, dass Myelompatienten monoklonale und keine polyklonalen freien Immunglobulinleichtketten ausscheiden und dies in viel höherer Urinkonzentration, als es bei Patienten mit chronischer Nierenerkrankung oder bei nierentransplantierten Patienten der Fall ist.

Den klinischen Implikationen, die mit den erhöhten Serum- und Urinkonzentrationen von Leichtketten bei chronisch niereninsuffizienten und nierentransplantierten Patienten verbunden sind, muss in weiteren Untersuchungen nachgegangen werden.

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

Urämietoxine werden für eine Vielzahl der Komplikationen bei chronischer Niereninsuffizienz wie beschleunigte Arteriosklerose oder Dysregulation des Immunsystems verantwortlich gemacht. Diese sind häufige Todesursachen bei chronischer Niereninsuffizienz. Freie Immunglobulinleichtketten zählen zu den Urämietoxinen und hemmen essentielle Funktionen der unspezifischen Immunantwort.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Auswirkungen von Nierenfunktion, Proteinurie und immunsuppressiver Therapie auf die Serumkonzentrationen und Urinausscheidung freier  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Immunglobulinleichtketten bei 100 Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen vor Dialysepflichtigkeit, 150 Nierentransplantierten und Gesunden untersucht. Ein neuer Assay zur Detektion freier Leichtketten im Urin wurde in der vorliegenden Arbeit etabliert.

Eine Einschränkung der Nierenfunktion führt bei chronisch Niereninsuffizienten zu einer tendenziellen Erhöhung der Leichtketten-Serumkonzentrationen; bei Patienten nach Nierentransplantation zu einem signifikanten Anstieg ab einer Serum-Kreatinin-Konzentration von 2,5 mg/dl. Die Urinexkretion freier Leichtketten war bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz signifikant gegenüber den Nierentransplantierten und den Kontrollen erhöht. Bei allen Patienten korrelierte sie mit Serum-Kreatinin und Kreatinin-Clearance. Der Grad der Proteinurie hatte auf die Leichtketten-Serumkonzentrationen der chronisch Niereninsuffizienten keine Auswirkungen. Im Urin dieser Patienten und in Serum und Urin der Nierentransplantierten zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Leichtketten-Konzentrationen ab einer Proteinurie von 1 g/24h. Die immunsuppressive Therapie führt sowohl bei chronisch Niereninsuffizienten als auch bei nierentransplantierten Patienten zu einer signifikant verminderten Ausscheidung von freien Leichtketten bei gleich bleibenden Serumkonzentrationen. Eine Differenzierung der Proteinurie ergab keinen Zusammenhang mit der Leichtkettenausscheidung. Zusätzliche Mechanismen müssen daher eine Rolle bei der Modulation der Serumspiegel freier Immunglobulinleichtketten bei diesen Patienten spielen. Renale Mechanismen wie z. B. verminderte Resorption und Katabolismus freier Leichtketten durch proximale Tubulusepithelzellen erscheinen möglich und würde die erhöhten Konzentrationen im Urin

erklären. Zukünftige Studien müssen die klinische Bedeutung der freien Immunglobulinleichtketten bei niereninsuffizienten Patienten weiter untersuchen.



## 7. LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Abe, M., Goto, T, Kosaka, M., Wolfenbarger, D., Weiss, D. T. and Solomon, A.: *Differences in Kappa to Lambda (Kappa:Lambda) Ratios of Serum and Urinary Free Light Chains*. Clin Exp Immunol **1998** (111) 2: 457-462
- 2) Askonas, B. A. and Williamson, A. R.: *Biosynthesis of Immunoglobulins. Free Light Chain as an Intermediate in the Assembly of Gamma G-Molecules*. Nature **1966** (211) 47: 369-372
- 3) Batuman, V., Verroust, P., Navar, G., Kaysen, J., Goda, F., Campbell, W., Simon, E., Pontillon, F., Lyles, M., Bruno, J. and Hammond, T.: *Myeloma Light Chains Are Ligands for Cubilin (Gp280)*. Am J Physiol **1998** (275) 2: 246-254
- 4) Beetham, R.: *Detection of Bence-Jones Protein in Practice*. Annals of Clinical Biochemistry **2000** (37) Pt 5: 563-570
- 5) Belotti, V., Merlini, G. and Bucciarelli, E.: *Relevance of Class, Molecular Weight and Isoelectric Point in Predicting Human Light Amyloidogenicity*. Br J Haematol **1990** (74) 65-68
- 6) Benson, M. D. and Cohen, A. S.: *Generalized Amyloid in a Family of Swedish Origin. A Study of 426 Family Members in Seven Generations of a New Kinship with Neuropathy, Nephropathy, and Central Nervous System Involvement*. Ann Intern Med **1977** (86) 4: 419-424
- 7) Berggard, I. and Edelman, G. M.: *Normal Counterparts to Bence-Jones Proteins: Free Light Chains of Human Gammaglobulin*. Natl. Acad. Sci. US **1963** (49) 330-336
- 8) Berggard, I. and Peterson, P. A.: *Polymeric Forms of Free Normal Kappa and Lambda Chains of Human Immunoglobulin*. J Biol Chem **1969** (244) 16: 4299-4307
- 9) Bianchi-Bosisio, A., D'Agrosa, F., Gaboardi, F., Gianazza, E. and Righetti, P. G.: *Sodium Dodecyl Sulphate Electrophoresis of Urinary Proteins*. J Chromatogr **1991** (569) 1-2: 243-260
- 10) Boure, T. and Vanholder, R.: *Biochemical and Clinical Evidence for Uremic Toxicity*. Artif Organs **2004** (28) 3: 248-253

- 11) Bradwell, A. R., Carr-Smith, H. D., Mead, G. P., Tang, L. X., Showell, P. J., Drayson, M. T. and Drew, R.:  
*Highly Sensitive, Automated Immunoassay for Immunoglobulin Free Light Chains in Serum and Urine.* Clin Chem **2001** (47) 4: 673-680
- 12) Brancaccio, D., Ghiggeri, G. M., Braidotti, P., Garberi, A., Gallieni, M., Bellotti, V., Zoni, U., Gusmano, R. and Coggi, G.:  
*Deposition of Kappa and Lambda Light Chains in Amyloid Filaments of Dialysis-Related Amyloidosis.* J Am Soc Nephrol **1995** (6) 4: 1262-1270.
- 13) Buxbaum, J. N., Chuba, J. V., Hellman, G. C., Solomon, A. and Gallo, G. R.:  
*Monoclonal Immunoglobulin Deposition Disease: Light Chain and Light and Heavy Chain Deposition Diseases and Their Relation to Light Chain Amyloidosis. Clinical Features, Immunopathology, and Molecular Analysis.* Ann Intern Med **1990** (112) 6: 455-464
- 14) Byron, P., Mallick, N. P. and Taylor, G.:  
*Immune Potential in Human Uraemia. 2. Changes after Regular Haemodialysis.* J Clin Pathol. **1976** (29) 9: 770-772
- 15) Byron, P., Mallick, N. P. and Taylor, G.:  
*Immune Potential in Human Uraemia. 1. Relationship of Glomerular.* J Clin Pathol. **1976** (29) 9: 765-769
- 16) Casellas, R., Shih, T. A., Kleinewietfeld, M., Rakonjac, J., Nemazee, D., Rajewsky, K. and Nussenzweig, M. C.:  
*Contribution of Receptor Editing to the Antibody Repertoire.* Science **2001** (291) 5508: 1541-1544
- 17) Chauveau, D. and Choukroun, G.:  
*Bence Jones Proteinuria and Myeloma Kidney.* Nephrol Dial Transplant **1996** (11) 3: 413-415
- 18) Chen, J. and Alt, F. W.:  
*Gene Rearrangement and B-Cell Development.* Curr Opin Immunol. **1993** (5) 2: 194-200
- 19) Chen, N. and Moe, S. M.:  
*Vascular Calcification in Chronic Kidney Disease.* Semin Nephrol. **2004** (24) 1: 61-68
- 20) Cockcroft, D. W. and Gault, M. H.:  
*Prediction of Creatinine Clearance from Serum Creatinine.* Nephron **1976** (16) 31-41

- 21) Cohen, G., Haag-Weber, M., Mai, B., Deicher, R. and Hörl, W. H.:  
*Effect of Immunoglobulin Light Chains from Hemodialysis and Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis Patients on Polymorphonuclear Leukocyte Functions.* J Am Soc Nephrol **1995** (6) 6: 1592-1599
- 22) Cohen, G., Haag-Weber, M. and Hörl, W. H.:  
*Immune Dysfunction in Uremia.* Kidney Int Suppl **1997** (62) S79-82
- 23) Cohen, G., Rudnicki, M. and Hörl, W. H.:  
*Uremic Toxins Modulate the Spontaneous Apoptotic Cell Death and Essential Functions of Neutrophils.* Kidney Int **2001** (59) Suppl 78: S48-52
- 24) Cohen, G., Rudnicki, M., Schmaldienst, S. and Hörl, W. H.:  
*Effect of Dialysis on Serum/Plasma Levels of Free Immunoglobulin Light Chains in End-Stage Renal Disease Patients.* Nephrol Dial Transplant **2002** (17(5)) 879-883
- 25) Cohen, G. and Hörl, W. H.:  
*Retinol Binding Protein Isolated from Acute Renal Failure Patients.* Eur J Clin Invest. **2004** (34) 11: 774-781.
- 26) Cooper, A. and Bluestone, R.:  
*Free Immunoglobulin Light Chains in Connective Tissue Diseases.* Ann Rheum Dis **1968** (27) 6: 537-543
- 27) Coward, R. A., Mallick, N. P. and Delamore I.W.:  
*Tubular Function in Multiple Myeloma.* Clin Nephrol **1985** (24) 4: 180-185
- 28) Descamps-Latscha, B.:  
*The Immune System in End-Stage Renal Disease.* Curr Opin Nephrol Hypertens **1993** (2) 883-891
- 29) Dhondt, A., Vanholder, R., Van Biesen, W. and Lameire, N.:  
*The Removal of Uremic Toxins.* Kidney Int **2000** (58) Suppl 76: S47-59
- 30) Dumas, B. T., Bayse, D. D., Borner, K., Carter, R. J., Elevitch, F., Garber, C. C., Graby, R. A., Hause, L. L., Mather, A., Peters, T., Jr., Rand, R. N., Reeder, D. J., Russell, S. M., Schaffer, R. and Westgard, J. O.:  
*A Candidate Reference Method for Determination of Total Protein in Serum. Ii. Test for Transferability.* Clin Chem **1981** (27) 10: 1651-1654
- 31) Drueke, T. B.:  
*Beta2-Microglobulin and Amyloidosis.* Nephrol Dial Transplant **2000** (15) Suppl 1: 17-24

- 
- 32) Elovaara, I, Seppala, I., Kinnunen, E, Laaksovirta, H:  
*Increased Occurrence of Free Immunoglobulin Light Chains in Cerebrospinal Fluid and Serum in Human Immunodeficiency Virus-1 Infection.* Journal of Neuroimmunology **1991** (35) 65-77
- 33) Epstein W., Gulyassy, P.F., Tan, M., Rae, A.I.:  
*Effect of Renal Homotransplantation on the Metabolism of the Light Chains of Immunoglobulins.* Ann Intern Med **1968** (68) 1: 48-62
- 34) Fagnart, O., Sindic, C. and Laterre, C.:  
*Free Kappa and Lambda Light Chain Levels in the Cerebrospinal Fluid.* J Neuroimmunol. **1988** (19) 1-2: 119-132
- 35) Falk, R. H., Comenzo, R.I. and Skinner, M.:  
*The Systemic Amyloidoses.* N Engl J Med **1997** (337) 13: 898-909.
- 36) Fermin, E.A., Johnson, C.A., Eckel, R.E., Bernier, G.M.:  
*Renal Removal of Low Molecular Weight Proteins in Myeloma and Renal Transplant Patients.* J Lab Clin Med **1974** (83) 5: 681-694
- 37) Fernandez, J. M., Carbonell, M. E., Mazzuchi, N. and Petruccielli, D.:  
*Simultaneous Analysis of Morbidity and Mortality Factors in Chronic.* Kidney Int. **1992** (41) 4: 1029-1034
- 38) Fleming, S., Moran, D. M., Cooksley, W. G. and Faoagali, J. L.:  
*Poor Response to a Recombinant Hepatitis B Vaccine in Dialysis Patients.* J Infect. **1991** (22) 3: 251-257.
- 39) Gallo, G., Wisniewski, T., Choi-Miura, N. H. and Frangione, B.:  
*Potential Role of Apolipoprotein-E in Fibrillogenesis.* Am J Pathol **1994** (145) 3: 526-530
- 40) Gally, J. A. and Edelman, G. M.:  
*Protein-Protein Interactions among L Polypeptide Chains of Bence-Jones Proteins and Human Gamma-Globulins.* J Exp Med **1964** (119) 817: 817-836
- 41) Ganeval, D., Noel, L. H., Preud'homme, J. L., Droz, D. and Grunfeld, J. P.:  
*Light-Chain Deposition Disease: Its Relation with AL-Type Amyloidosis.* Kidney Int **1984** (26) 1: 1-9
- 42) Gertz, M. A., Lacy, M. and Dispenzieri, A.:  
*Amyloidosis: Recognition, Confirmation, Prognosis, and Therapy.* Mayo Clin Proc **1999** (74) 5: 490-494
- 43) Gertz, M. A., Lacy, M. and Dispenzieri, A.:  
*Immunoglobulin Light Chain Amyloidosis and the Kidney.* Kidney Int **2002** (61) 1: 1-9

- 
- 44) Girndt, M., Sester, M., Sester, U., Kaul, H. and Kohler, H.:  
*Molecular Aspects of T- and B-Cell Function in Uremia*. *Kidney Int Suppl* **2001** (78) 11: S206-211
- 45) Gordon, D. A., Eisen, A. Z. and Vaughan, J. H.:  
*Studies on Urinary Gamma Globulin in Patients with Rheumatoid Arthritis*. *Arthritis Rheumat.* **1966** (9) 575-562
- 46) Gordon, S. and Cohen, S.:  
*Recombination of Heavy and Light Chains from Human Immunoglobulins*. *Immunology* **1966** (10) 6: 549-557
- 47) Haag-Weber, M., Mai, B. and Hörl, W. H.:  
*Impaired Cellular Host Defence in Peritoneal Dialysis by Two Granulocyte Inhibitory Proteins*. *Nephrol Dial Transplant* **1994** (9) 12: 1769-1773
- 48) Hannam-Harris, A. C., Gordon, J. and Smith, J. L.:  
*Immunoglobulin Synthesis by Neoplastic B Lymphocytes: Free Light Chain Synthesis as a Marker of B Cell Differentiation*. *J Immunol* **1980** (125) 5: 2177-2181
- 49) Harris, A.A., Wilkman, A.S., Hogan, S.L.:  
*Amyloidosis and Light Chain Deposition Disease in Renal Biopsy Specimens: Pathology, Laboratory Data, Demographics and Frequency* *J Am Soc Nephrol* **1997** (8) 537A
- 50) Heukeshoven, J. and Dernick, R.:  
*Improved Silver Staining Procedure for Fast Staining in Phastsystem Development Unit. I. Staining of Sodium Dodecyl Sulfate Gels*. *Electrophoresis* **1988** (9) 1: 28-32
- 51) Hopper, J. E., Golbus, J., Meyer, C. and Ferrer, G. A.:  
*Urine Free Light Chains in SLE: Clonal Markers of B-Cell Activity and Potential Link to in Vivo Secreted Ig*. *Journal of Clinical Immunology* **2000** (20) 2: 123-137
- 52) Hopper, J.E., Sequeira, W., Martellotto, J.N., Papagiannes, E., Perna, L., Skosey, J.L.:  
*Clinical Relapse in Systemic Lupus Erythematosos: Correlation with Antecedent Elevation of Urinary Free Light Chain Immunoglobulin*. *J Clin Immunol* **1989** (9) 338-350
- 53) Hörl, W. H., Haag-Weber, M., Georgopoulos, A. and Block, L. H.:  
*Physicochemical Characterization of a Polypeptide Present in Uremic Serum That Inhibits the Biological Activity of Polymorphonuclear Cells*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1990** (87) 16: 6353-6357

- 
- 54) Hörl, W. H.:  
*Uremic Toxins: New Aspects*. J Nephrol **2000** (13) 3: S83-88
- 55) Hörl, W. H., Cohen, J. J., Harrington, J. T., Madias, N. E. and Zusman, C. J.:  
*Atherosclerosis and Uremic Retention Solutes*. Kidney Int **2004** (66) 4: 1719-1731
- 56) Hurler, M. R., Helms, L. R., Li, L., Chan, W. and Wetzel, R.:  
*A Role for Destabilizing Amino Acid Replacements in Light-Chain Amyloidosis*. Proc Natl Acad Sci U S A **1994** (91) 12: 5446-5450
- 57) Iwata, J. and Nishikaze, O.:  
*New Micro-Turbidimetric Method for Determination of Protein in Cerebrospinal Fluid and Urine*. Clin Chem **1979** (25) 7: 1317-1319
- 58) Jones, J. M. and Gellert, M.:  
*The Taming of a Transposon: V(D)J Recombination and the Immune System*. Immunol Rev **2004** (200) 233-248
- 59) Kerscher, L., Schiefer, S., Draeger, B., Maier, J. and Ziegenhorn, J.:  
*Precipitation Methods for the Determination of Ldl-Cholesterol*. Clin Biochem **1985** (18) 2: 118-125
- 60) Kisilevsky, R. and Young, I. D.:  
*Pathogenesis of Amyloidosis*. Baillieres Clin Rheumatol **1994** (8) 3: 613-626
- 61) Lachmann, H. J., Gallimore, R., Gillmore, J. D., Carr-Smith, H. D., Bradwell, A. R., Pepys, M. B. and Hawkins, P. N.:  
*Outcome in Systemic AL Amyloidosis in Relation to Changes in Concentration of Circulating Free Immunoglobulin Light Chains Following Chemotherapy*. Br J Hematol **2003** (122) 1: 78-84
- 62) Laemmli, U. K.:  
*Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4*. Nature **1970** (227) 5259: 680-685
- 63) Laurent, G., Calemard, E., Charra, B., Falk, R. H., Comenzo, R. L., Skinner, M., Gertz, M. A., Lacy, M. Q., Dispenzieri, A., Winearls, C. G., Solomon, A., Weiss, D. T., Kattine, A. A., Chauveau, D., Choukroun, G., Coward, R. A., Mallick, N. P., Delamore, I. W., Sanders, P. W. and Booker, B. B.:  
*Dialysis Related Amyloidosis*. Kidney Int Suppl **1988** (24) 13: S32-34
- 64) Le Bricon, T., Bengoufa, D., Benlakehal, M., Bousquet, B. and Erlich, D.:  
*Urinary Free Light Chain Analysis by the Freelite Immunoassay: A Preliminary Study in Multiple Myeloma*. Clinical Biochemistry **2002** (35) 7: 565-567

- 
- 65) Leboulleux, M., Lelongt, B., Mougenot, B., Touchard, G., Makedassi, R., Rocca, A., Noel, L. H., Ronco, P. M. and Aucouturier, P.:  
*Protease Resistance and Binding of Ig Light Chains in Myeloma-Associated Tubulopathies.* *Kidney Int* **1995** (48) 1: 72-79
- 66) Levey, A., Bosch, J., Lewis, J., Greene, T., Rogers, N. and Roth, D.:  
*A More Accurate Method to Estimate Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine: A New Prediction Equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group.* *Ann Intern Med* **1999** (16) 130 (6): 461-470
- 67) London, G. M.:  
*Cardiovascular Calcifications in Uremic Patients: Clinical Impact On.* *J Am Soc Nephrol.* **2003** (14) 9 Suppl 4: S305-309
- 68) McKelvey, E. M. and Fahey, J. L.:  
*Immunoglobulin Changes in Disease: Quantitation on the Basis of Heavy Polypeptide Chains, Igg (Gammag), Iga (Gammaa), and Igm (Gammam), and of Light Polypeptide Chains, Type K (I) and Type L (Ii).* *J Clin Invest* **1965** (44) 11: 1778-1787
- 69) McLean, B. N., Rudge, P. and Thompson, E. J.:  
*Cyclosporin a Curtails the Progression of Free Light Chain Synthesis in the Csf of Patients with Multiple Sclerosis.* *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **1989** (52) 4: 529-531
- 70) Meffre, E., Papavasiliou, F., Cohen, P., de Bouteiller, O., Bell, D., Karasuyama, H., Schiff, C., Banchereau, J., Liu, Y. J. and Nussenzweig, M. C.:  
*Antigen Receptor Engagement Turns Off the V(D)J Recombination Machinery in Human Tonsil B Cells.* *J Exp Med* **1998** (188) 4: 765-772
- 71) Mehta PD, C. S., Coyle PK, Troiano RA, Constantinescu CS, Rostami AM:  
*Free Light Chains in Multiple Sclerosis Urine.* *Mult Scler* **1998** (4) 3: 254-256
- 72) Meri, S., Koistinen, V., Miettinen, A., Tornroth, T. and Seppala, I. J.:  
*Activation of the Alternative Pathway of Complement by Monoclonal Lambda.* *J Exp Med.* **1992** (175) 4: 939-950
- 73) Morrison A. B., Maness K. and R., T.:  
*Skin Homograft Survival in Chronic Renal Insufficiency.* *Arch Pathol Lab Med* **1963** (75) 139-143
- 74) Moss, G. A., Bondar, R. J. and Buzzelli, D. M.:  
*Kinetic Enzymatic Method for Determining Serum Creatinine.* *Clin Chem* **1975** (21) 10: 1422-1426.

- 
- 75) Ottonello, L., Gnerre, P., Bertolotto, M., Mancini, M., Dapino, P., Russo, R., Garibotto, G., Barreca, T. and Dallegri, F.:  
*Leptin as a Uremic Toxin Interferes with Neutrophil Chemotaxis.* J Am Soc Nephrol. **2004** (15) 9: 2366-2372.
- 76) Perna, A., Castaldo, P., Ingrosso, D. and De Santo, N. G.:  
*Homocysteine, a New Cardiovascular Risk Factor, Is Also a Powerful Uremic Toxin.* J Nephrol. **1999** (12) 4: 230-240
- 77) Peterson, P. A., Evrin, P. E. and Berggard, I.:  
*Differentiation of Glomerular, Tubular, and Normal Proteinuria: Determinations of Urinary Excretion of Beta-2-Macroglobulin, Albumin, and Total Protein.* J Clin Invest **1969** (48) 7: 1189-1198
- 78) Porter, R. R.:  
*Structural Studies of Immunoglobulins.* Science **1973** (180) 87: 713-716
- 79) Pote, A., Zwizinski, C., Simon, E. E., Meleg-Smith, S. and V. Batuman:  
*Cytotoxicity of Myeloma Light Chains in Cultured Human Kidney Proximal Tubule Cells.* Am J Kidney Dis **2000** (36) 735-744
- 80) Pozzi, C., D'Amico, M., Fogazzi, G. B., Curioni, S., Ferrario, F., Pasquali, S., Quattrocchio, G., Rollino, C., Segagni, S., Locatelli, F., Randall, R. E., Williamson, W. C., Jr., Mullinax, F., Tung, M. Y. and Still, W. J.:  
*Light Chain Deposition Disease with Renal Involvement: Clinical Characteristics and Prognostic Factors: Manifestations of Systemic Light Chain Deposition.* Am J Kidney Dis **2003** (42) 6: 1154-1163
- 81) Preud'homme, J. L., Aucouturier, P., Touchard, G., Striker, L., Khamlichi, A. A., Rocca, A., Denoroy, L. and Cogne, M.:  
*Monoclonal Immunoglobulin Deposition Disease (Randall Type). Relationship with Structural Abnormalities of Immunoglobulin Chains.* Kidney Int **1994** (46) 4: 965-972
- 82) Putnam, F. W., Hardy S.:  
*Proteins in Multiple Myeloma. Iii. Origin of Bence-Jones Protein.* J Biol Chem **1955** (212) 361: 361-369
- 83) Rajewsky, K.:  
*Clonal Selection and Learning in the Antibody System.* Nature. **1996** (381) 6585: 751-758
- 84) Randall, R. E., Williamson, W. C., Jr., Mullinax, F., Tung, M. Y. and Still, W. J.:  
*Manifestations of Systemic Light Chain Deposition.* Am J Med **1976** (60) 2: 293-299



- 
- 85) Redegeld, F. A., van der Heijden, M. W., Kool, M., Heijdra, B. M., Garssen, J., Kraneveld, A. D., Van Loveren, H., Roholl, P., Saito, T., Verbeek, J. S., Claasens, J., Koster, A. S., Nijkamp, F. P.:  
*Immunoglobulin-Free Light Chains Elicit Immediate Hypersensitivity-Like Responses*. *Nat Med* **2002** (8) 7: 694-701
- 86) Ringoir, S., Schoots, A. and Vanholder, R.:  
*Uremic Toxins*. *Kidney Int Suppl* **1988** (24) S4-9
- 87) Sanders, P. and Booker, B. B.:  
*Pathobiology of Cast Nephropathy from Human Bence Jones Proteins*. *J Clin Invest* **1992** (89) 2: 630-639
- 88) Shapiro, A. L., Scharff, M. D., Maizel, J. V., Jr. and Uhr, J. W.:  
*Polyribosomal Synthesis and Assembly of the H and L Chains of Gamma Globulin*. *Proc Natl Acad Sci USA* **1966** (56) 1: 216-221
- 89) Solling, K.:  
*Free Light Chains of Immunoglobulins in Normal Serum and Urine Determined by Radioimmunoassay*. *Scand J Clin Lab Invest* **1975** (35) 5: 407-412
- 90) Solling, K.:  
*Polymeric Forms of Free Light Chains in Serum from Normal Individuals and from Patients with Renal Diseases*. *Scand J Clin Lab Invest* **1976** (36) 5: 447-452
- 91) Solling, K. and Ehlers, N.:  
*Free Light Chains in Serum During Short Course Immunosuppression after Corneal Transplantation*. *Scand J Clin Lab Invest* **1978** (38) 4: 369-373
- 92) Solling, K.:  
*Light Chain Polymerism in Normal Individuals in Patients with Severe Proteinuria and in Normals with Inhibited Tubular Protein Reabsorption by Lysine*. *Scand J Clin Lab Invest* **1980** (40) 2: 129-134
- 93) Solling, K.:  
*Free Light Chains of Immunoglobulins*. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* **1981** (157) 1-83
- 94) Solomon, A., Frangione, B. and Franklin, E. C.:  
*Bence Jones Proteins and Light Chains of Immunoglobulins. Preferential Association of the V Lambda Vi Subgroup of Human Light Chains with Amyloidosis Al (Lambda)*. *J Clin Invest* **1982** (70) 2: 453-460
- 95) Stierle, H. E., Oser, B. and Boesken, W. H.:  
*Improved Classification of Proteinuria by Semiautomated Ultrathin SDS Polyacrylamide Gel Electrophoresis*. *Clin Nephrol* **1990** (33) 4: 168-173

- 
- 96) Strober, W., Mogielnicki, R. P. and Waldmann, T. A.:  
*The Role of the Kidney in the Metabolism of Serum Proteins*. Ciba Found Symp  
**1972** (9) 25-45
- 97) Sun, M., Gao, Q. S., Li, L. and Paul, S.:  
*Proteolytic Activity of an Antibody Light Chain*. J Immunol. **1994** (153) 11:  
5121-5126
- 98) Tsai, C.Y., Wu, T.H., Sun, K.H., Lin, W.M., Yu, C.L.:  
*Increased Excretion of Soluble Interleukin 2 Receptors and Free Light Chain  
Immunoglobulins in the Urine of Patients with Active Lupus Nephritis*. Ann  
Rheum Dis **1992** (51) 2: 168-172
- 99) van Beers, D., Liesnard, C., Duys, M., Etienne, J. and Cappel, R.:  
*Preliminary Results of Hepatitis B Vaccination (Hevac B) in Healthy*. Dev Biol  
Stand **1983** (54) 163-169
- 100) Vanholder, R., De Smet, R., Vogeleere, P. and Ringoir, S.:  
*Middle Molecules: Toxicity and Removal by Hemodialysis and Related Strate-  
gies*. Artif Organs **1995** (19) 11: 1120-1125
- 101) Vanholder, R., Van Loo, A., Dhondt, A. M., De Smet, R. and Ringoir, S.:  
*Influence of Uraemia and Haemodialysis on Host Defence and Infection*.  
Nephrol Dial Transplant **1996** (11) 4: 593-598
- 102) Vanholder, R., Argiles, A., Baurmeister, U., Brunet, P., Clark, W., Cohen, G.,  
De Deyn, P. P., Deppisch, R., Descamps-Latscha, B., Henle, T., Jorres, A.,  
Massy, Z. A., Rodriguez, M., Stegmayr, B., Stenvinkel, P. and Wratten, M. L.:  
*Uremic Toxicity: Present State of the Art*. Int J Artif Organs **2001** (24) 10: 695-  
725
- 103) Vanholder, R., De Smet, R., Glorieux, G., Argiles, A., Baurmeister, U., Brunet,  
P., Clark, W., Cohen, G., De Deyn, P. P., Deppisch, R., Descamps-Latscha, B.,  
Henle, T., Jorres, A., Lemke, H. D., Massy, Z. A., Passlick-Deetjen, J., Rodri-  
guez, M., Stegmayr, B., Stenvinkel, P., Tetta, C., Wanner, C. and Zidek, W.:  
*Review on Uremic Toxins: Classification, Concentration, and Interindividual  
Variability*. Kidney Int **2003** (63) 5: 1934-1943
- 104) Vanholder, R., Glorieux, G., De Smet, R. and Lameire, N.:  
*New Insights in Uremic Toxins*. Kidney Int Suppl **2003** 84: S6-10
- 105) Vaughan J, J. R., Gray BA:  
*Light and Heavy Chain Components of Gamma Globulins in Urines of Normal  
Persons and Patients with Agammaglobulinemia*. Journal of Clinical Investiga-  
tion **1967** (46) 2: 266-278

- 
- 106) Wakasugi, K., Sasaki, M., Suzuki, M., Azuma, N. and Nobuto, T.:  
*Increased Concentrations of Free Light Chain Lambda in Sera from Chronic Hemodialysis Patients*. *Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol* **1991** (19) 1: 97-109
- 107) Wakasugi, K., Suzuki, H., Imai, A., Konishi, S. and Kishioka, H.:  
*Immunoglobulin Free Light Chain Assay Using Latex Agglutination*. *Int J Clin Lab Res* **1995** (25) 4: 211-215
- 108) Waldmann, T. A. and Strober, W.:  
*Metabolism of Immunoglobulins*. *Prog Allergy* **1969** (13) 1-110
- 109) Waldmann, T. A., Strober, W. and Mogielnicki, R. P.:  
*The Renal Handling of Low Molecular Weight Proteins. II. Disorders of Serum Protein Catabolism in Patients with Tubular Proteinuria, the Nephrotic Syndrome, or Uremia*. *J Clin Invest* **1972** (51) 8: 2162-2174
- 110) Wochner, R. D., Strober, W. and Waldmann, T. A.:  
*The Role of the Kidney in the Catabolism of Bence Jones Proteins and Immunoglobulin Fragments*. *J Exp Med* **1967** (126) 2: 207-221
- 111) Yavuz, A., Tetta, C., Ersoy, F., D'Intini, V., Ratanarat, R., Cal, M. D., Bonello, M., Bordoni, V., Salvatori, G., Andrikos, E., Yakupoglu, G., Levin, G. and Ronco, C.:  
*Uremic Toxins: A New Focus on an Old Subject*. *Semin Dial*. **2005** (18) 3: 203-211
- 112) Zwizinski, C., Niu, X., Batuman, V.:  
*Mechanisms of Myeloma Light Chain Cytotoxicity on Human Proximal Tubule Cells*. *J Am Soc Nephrol* **1999** (10) 152A

**DANKSAGUNG:**

Herrn Univ.-Professor Dr. med. Dr. rer.nat. Walter H. Hörl, Universitätsklinikum Wien, Österreich, danke ich besonders herzlich für die Überlassung des Themas sowie die ständige Bereitschaft, mich bei der praktischen und theoretischen Bearbeitung des Themas zu unterstützen. Insbesondere bedanke ich mich für die Möglichkeit, meine Dissertationsergebnisse in Form von Posterpräsentationen zweimalig auf internationalen Kongressen vorgestellt haben zu können.

Bei Herrn Privatdozenten Dr. med. Detlef Lang, Universitätsklinikum Münster, möchte ich mich für die Übernahme des Gutachtens und der Betreuung in Münster sehr bedanken.

Ganz besonders herzlich danke ich Herrn Dr. rer.nat. Gerald Cohen, Universitätsklinikum Wien, Österreich, für die große Unterstützung und Anleitung der praktischen Arbeiten sowie die aufmerksame und hilfreiche Korrektur des Manuskriptes.

Weiterhin bin ich Frau Professor Dr. med. Sabine Schmaldienst für die Akquirierung der Patientenproben zu großem Dank verpflichtet.

Bei Herrn M. Benesch vom Institut für medizinische Statistik der Universität Wien bedanke ich mich für wertvolle Anregungen zur statistischen Auswertung.

Der stets hilfsbereiten technischen Assistentin Frau Jana Raupachova danke ich sehr für ihre Unterstützung in grundlegenden biochemischen Fragestellungen und ihre große Geduld.

Frau Dr. med. Alena Buyx und meinem Bruder Michael gebührt großer Dank für die Hilfe bei der Korrektur und der Formatierung des Manuskriptes.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, denen diese Arbeit gewidmet ist, und meinen Geschwistern Eva und Michael.

Mein letzter und liebster Dank geht an Jens Reiermann, ohne dessen Unterstützung nichts von alledem möglich gewesen wäre.



## ANHANG

### *I. Material*

#### **Reagenzien**

Bromphenolblau

$C_{19}H_{10}Br_4O_5S$

Merck, Darmstadt

8122

EDTA Ethylendiamintetraacetat Dinatriumsalz

$C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$

Sigma, München

Ethanol absolut

$C_2H_5OH$

Merck, Darmstadt

1.00986

Essigsäure 100% p.A.

$CH_3COOH$

Merck, Darmstadt

1.00063

Formaldehydlösung min. 37%

$HCHO$

Merck, Darmstadt

4002

Glutaraldehydlösung 5%ig

Amersham Pharmacia Bioscience, Freiburg

PhastGel Silver Kit

Glycerin p.A.

$C_3H_8O_3$

Merck, Darmstadt

1.04092

Glycin

$C_2H_5NO_2$

Merck, Darmstadt

317

HCl 5M

Merck, Darmstadt

99112

Methanol p.A.

$CH_3OH$

Merck, Darmstadt

1.06009

Natriumacetat

$NaCH_3COO$

Merck, Darmstadt

1539

Natriumazid

$NaN_3$

Merck, Darmstadt

1.06688



Natriumcarbonat

$\text{Na}_2\text{CO}_3$

Merck, Darmstadt

6392

Natriumchlorid

$\text{NaCl}$

Merck, Darmstadt

6404

Natriumthiosulfat Pentahydrat

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Merck, Darmstadt

6509

PBS

Dulbecco's phosphate buffered saline

Fisher Scientific, Schwerte

BW04-409R

SDS - Dodecylsulfat Natriumsalz

$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$

Merck, Darmstadt

822050

Silbernitrat p.A.

$\text{AgNO}_3$

Merck, Darmstadt

1.01512

Trichloressigsäure (TCA)

$C_2HCl_3O_2$

Merck, Darmstadt

822342

Tris(hydroxymethyl)aminomethan

$C_4H_{11}NO_3$

Merck, Darmstadt

8382

Tween 20

Polyoxyethylensorbitanmonolaurat

Merck, Darmstadt

822184

2-Mercapto-Ethanol

$C_2H_6OS$

LKB, Bromma, Schweden

1830-401

## **Materialien**

Anti-Human Kappa Light Chain (bound and free)

Rabbit - IgG fraction

Sigma, St. Louis, USA

K 1255

Anti-Human Lambda Light Chain (bound and free)

Rabbit - IgG fraction

Sigma, St. Louis, USA

L 7646

Blue Sepharose 6 Fast Flow

Amersham Pharmacia Bioscience, Freiburg

17-0948-01

ECL Western Blotting Detection System

Amersham Biotech, Frankfurt a. Main

RPN2106

Goat-Anti-Rabbit (HRP-labelled)

Amersham Biotech, Frankfurt a. Main

NIP 824

Human Bence Jones lambda

$\lambda$ -Leichtketten

Nordic Immunology, Tilburg, Niederlande

P 017

Human Bence Jones kappa

$\kappa$ -Leichtketten

Nordic Immunology, Tilburg, Niederlande

P 016

Hybond ECL Nitrocellulose Membrane  
Amersham Biotech, Frankfurt a. Main  
RPN 2020D

Hyperfilm ECL 18x24cm 25Stk.  
Amersham Biotech, Frankfurt a. Main  
RPN 2103

Low Molecular Weight Electrophoresis Calibration Kit  
Amersham Pharmacia Bioscience, Freiburg  
17-0446-01

PhastGel Homogeneous 12,5  
Amersham Pharmacia Bioscience, Freiburg  
17-0623-01

PhastGel Sample Applicator 12/0.3  
Amersham Pharmacia Bioscience, Freiburg  
18-1614-01

PhastGel Sample Applicator 8/1  
Amersham Pharmacia Bioscience, Freiburg  
18-1618-01

PhastGel SDS Buffer Stripes  
Amersham Pharmacia Bioscience, Freiburg  
17-0516-01

PhastTransfer Filter Paper  
Amersham Pharmacia Bioscience, Freiburg  
18-1003-18

Ultrascan XL

Amersham Pharmacia Bioscience, Freiburg

## **Software**

Image-master-1D

Amersham Pharmacia Bioscience, Freiburg

## **Puffer/Lösungen**

SDS-Probenpuffer

12,5 mmol/l Tris (pH 6,8), 0,4% SDS, 5% Mercaptoethanol, 5% Glycerin, 0,008%  
Bromphenolblau

TBS

10 mmol/l Tris (pH7,4), 150 mmol/l NaCl,

TBS-T

TBS mit 0,5% Tween

Transferpuffer

58,1 g Tris, 29,3 g Glycin, 3,75 g SDS ad 1000 ml H<sub>2</sub>O dest

1 Volumenteil Transferpuffer, 7 Volumenteile H<sub>2</sub>O dest, 2 Volumenteile Methanol

## II. Patientendaten

### Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen

Pat.Nr.	Geschlecht	Grunderkrankung	Alter	Krea	Proteinurie	IST	Pred
211	f	MCGN	18	0,66	1,7	-	-
525	f	IgA-Nephritis	26	0,76	0,94	-	-
505	f	prim. FSGS	52	0,78	1,48	-	-
501	f	Zystennieren	28	0,79	0	-	-
397	f	Purpura Schönlein Henoch	32	0,79	0,25	-	-
414	m	membranöse GN	50	0,80	20,35	-	-
511	f	FSGS	37	0,81	0	-	-
442	m	membranöse GN	23	0,84	1,14	CyA	5
101	m	Lupus Nephritis	32	0,86	6,82	-	1 - -
406	m	MCGN	28	0,87	0	-	-
242	f	Zystennieren	38	0,87	0,08	-	-
393	m	MCGN	23	0,88	0	-	5
339	f	unbekannt	70	0,89	0	-	5
512	f	membranöse GN	65	0,89	0	-	-
214	f	rezid. HWI	44	0,89	2,54	-	-
510	f	sek. FSGS	50	0,89	2,94	-	1,25
199	m	membranöse GN	56	0,95	0,54	-	-
239	f	MCGN	50	0,96	0,64	-	1,25
212	m	membranöse GN	62	0,97	0,3	-	-
518	f	Nierenarterien-Stenose	34	1,00	0,3	-	-
90	m	MCGN	78	1,00	0,82	CyA	2,5
408	f	Z.n. ANV	67	1,03	0,19	-	-
208	f	Pauci-Immun-GN	40	1,04	0,86	Cyclophosphamid	2,5
524	m	Mikrohämaturie	27	1,06	0,6	-	-
391	f	diabet. Nephropathie	56	1,06	4,32	-	-
507	f	membranöse GN	63	1,08	0,23	Cyclophosphamid	8,75
355	m	MCGN	34	1,10	0	CyA	12,5
375	m	membranöse GN	61	1,11	3,75	CyA	2 -
228	f	Z.n.ANV	79	1,14	0,2	-	-
521	m	Pauci-Immun-GN	46	1,14	0,2	-	-
407	m	MCGN	70	1,14	5,04	-	1 -
506	m	unbekannt	30	1,15	0,72	-	-
421	m	membranöse GN	59	1,17	1,91	CyA	5
526	m	membranoprolif. GN	36	1,18	5,22	-	-



522	f	membranöse GN	75	1,22	3,72	Cyclophosphamid	25
380	f	Z.n. ANV	69	1,23	0	-	-
247	m	Pauci-Immun-GN	59	1,26	0	-	-
222	m	IgA-Nephritis	60	1,26	0,33	-	-
196	f	membranöse GN	71	1,29	2,73	-	-
232	f	FSGS	76	1,30	3,15	CyA	5 -
384	m	Nephrosklerose	43	1,39	7,88	-	-
473	m	membranöse GN	60	1,42	0,34	CyA	7,5
327	m	membranöse GN	60	1,52	0	CyA	2,5
246	f	Nephrosklerose	49	1,57	0,59	-	-
346	m	unbekannt	44	1,64	0,26	CyA	-
213	f	RPGN	56	1,66	2,21	-	5 -
221	m	interstitielle Nephritis	37	1,67	1,11	-	-
409	f	diabet. Nephropathie	75	1,68	0,65	-	-
502	m	prim. FSGS	25	1,73	12,5	-	-
398	f	IgA-Nephritis	25	1,82	1,3	-	2,5
460	f	diabet. Nephropathie	72	1,83	0,17	-	-
241	f	FSGS	48	1,89	2,6	-	-
226	f	Z.n. ANV	57	1,98	0,46	-	-
227	m	diabet. Nephropathie	47	2,10	1,1	-	-
378	f	Zystennieren	50	2,27	0	-	-
405	m	diabet. Nephropathie	40	2,27	4,8	-	-
392	m	diabet. Nephropathie	60	2,29	9	-	-
519	m	IgA-Nephritis	25	2,35	2,01	Cyclophosphamid	12,5
328	f	Nephrosklerose	80	2,38	0,15	-	-
396	f	diabet. Nephropathie	58	2,40	0	-	-
209	m	Nephrosklerose	35	2,41	0	-	-
527	m	IgA Nephritis,	41	2,42	0,23	-	-
202	m	Z.n. ANV	86	2,50	0,14	-	-
207	f	RPGN	67	2,50	1,6	-	6
508	m	Analgetika-Nephropathie	59	2,53	0	-	-
388	m	Nephrosklerose	70	2,57	4,24	-	-
399	f	Analgetika-Nephropathie	64	2,64	2,55	-	-
206	f	interstitielle Nephritis	47	2,71	0,2	-	-
203	m	diabet. Nephropathie	61	2,75	3,74	-	-
215	m	IgA-Nephritis,	65	2,79	6,07	-	-
383	m	Analgetika-Nephropathie	60	2,80	0	-	-
404	f	interstitielle Nephritis	54	2,82	0,13	-	-
243	m	diabet. Nephropathie	62	2,88	2,86	-	-
205	m	Nephrosklerose	32	2,90	0,4	-	-
220	m	SLE.	42	2,97	6,75	-	-

204	m	FSGS	54	3,00	2,44	-	-
517	f	Schrumpfnieren	24	3,15	0,53	-	-
379	f	Analgetika-Nephropathie	74	3,16	0,66	-	-
197	f	Zystennieren	44	3,22	0	-	-
509	m	Schrumpfnieren	57	3,28	2,35	-	-
217	f	Schrumpfnieren	55	3,56	0,21	-	4
385	m	interstitielle Nephritis	70	3,60	0,98	-	-
216	f	unbekannt	64	3,84	0	-	-
235	m	diabet. Nephropathie	51	3,85	5,25	-	-
400	f	diabet. Nephropathie	74	4,01	3	-	-
403	f	unbekannt	77	4,22	4,7	-	-
503	f	diabet. Nephropathie	88	4,25	0,38	-	-
233	f	Pauci-Immun-GN	40	4,45	1,15	-	2,5
210	f	Analgetika-Nephropathie	74	4,50	1,48	-	-
504	f	Schrumpfnieren	43	4,54	1,5	-	-
223	m	IgA-Nephritis,	63	4,70	1,1	-	-
513	f	Zystennieren	50	4,83	0,8	-	-
394	f	IgA-Nephritis	63	4,92	0,96	-	-
389	f	Schrumpfnieren	60	5,47	1,47	-	-
218	m	unbekannt	69	5,65	2,1	-	-
244	f	unbekannt	34	6,32	1,45	-	-
381	f	FSGS	60	6,43	6,36	-	-
390	f	diabet. Nephropathie	57	6,47	7,33	-	-
201	f	Analgetika-Nephropathie	63	6,52	0,57	-	-
230	m	interstitielle Nephritis	40	6,65	2,57	-	-

*Tabelle I: Klinische Daten der Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen*

## Patienten nach Nierentransplantation

Pat.Nr.	Geschlecht	Grunderkrankung	Alter	Krea	Proteinurie
168	f	NTX 3/90, Schrumpfnieren	72	0,83	0
264	f	NTX 7/97, SLE	46	0,87	0
153	f	NTX 5/96, membranöse GN	44	0,89	3,24
155	f	NTX 9/94, Poststreptokokken-GN	44	0,95	0
437	f	NTX 4/86, interstitielle Nephritis	66	0,96	0
357	f	NTX 1/96, diabet. Nephropathie	51	0,98	1,71
281	f	NTX 5/90, Zystennieren	62	1,02	0
332	m	NTX 5/85, Schrumpfnieren	37	1,02	0,44
482	f	NTX 2/90, Analgetika-Nephropathie	52	1,04	0
135	f	NTX 3/86, Schrumpfnieren	62	1,06	0
271	f	NTX 7/93, Zystennieren	74	1,06	0,16
272	f	NTX 4/88, unbekannt	41	1,08	0,29
279	m	NTX 12/89, Schrumpfnieren	54	1,09	0
439	f	NTX 1/92, Zystennieren	51	1,1	0
68	m	NTX 1/93, Zystennieren	71	1,1	0
255	f	NTX 9/93, Schrumpfnieren	58	1,1	0
117	m	NTX 1/92, Zystennieren	70	1,11	0
418	f	NTX 11/80, unbekannt	62	1,11	0,32
489	f	NTX 4/87, Analgetika Nephropathie	62	1,12	0,3
177	f	NTX 2/93, Schrumpfnieren	60	1,13	0
371	f	NTX 3/96, Schrumpfnieren	67	1,14	0
10	m	NTX 11/90, unbekannt	67	1,14	0,35
159	m	NTX 4/96, Nephrosklerose	70	1,16	1,3
477	f	NTX 4/95, unbekannt	44	1,17	0
478	m	NTX 1/91, interstitielle Nephritis	23	1,17	0,38
310	f	NTX 3/93, Schrumpfnieren	54	1,18	0
356	f	NTX 4/93, Analgetika-Nephropathie	66	1,18	1,09
256	f	NTX 9/97, M. Wegener	46	1,21	0
143	m	NTX 7/96, interstitielle Nephritis	51	1,22	0
107	f	NTX 5/94, diabet. Nephropathie	59	1,23	0
330	m	NTX 9/97, Zystennieren	52	1,23	0,64
268	m	NTX 5/89, chronische Pyelonephritis	35	1,24	1,01
361	f	NTX 2/97, Analgetika-Nephropathie	51	1,24	1,95
11	m	NTX 9/94, unbekannt	47	1,25	0,25
78	f	NTX 11/91, diabet. Nephropathie	51	1,25	0,46
316	f	NTX 3/96, Schrumpfnieren	59	1,26	0,3
172	m	NTX, 10/92, unbekannt	52	1,27	5,94

452	f	NTX 10/94, Analgetika-Nephropathie	64	1,28	0
493	f	NTX 6/94, Schrumpfnieren	57	1,29	0
104	f	NTX 4/97, Poststreptokokken-GN	56	1,29	0,28
360	f	NTX 5/96, Schrumpfnieren	60	1,31	0,3
131	m	NTX 8/93, Nieren-TBC	64	1,32	0,51
86	m	NTX 7/94, Schrumpfnieren	59	1,33	0,4
154	f	NTX 4/94, chron. Pyelonephritis	38	1,35	0
475	m	NTX 8/94, Schrumpfnieren	38	1,36	0,17
470	m	NTX 11/84, unbekannt	48	1,36	0,85
490	m	NTX 11/73, Poststreptokokken-GN	52	1,38	0,13
324	m	NTX 10/93, Schrumpfnieren	50	1,4	0
258	f	NTX 6/94, diabet. Nephropathie	72	1,4	0
488	m	NTX 8/95, Zystennieren	53	1,4	0,15
376	f	NTX 6/89, Schrumpfnieren	61	1,42	0
21	m	NTX 11/93, Alport-Syndrom	41	1,42	0,19
440	f	NTX 10/96, Zystennieren	49	1,42	0,4
319	m	NTX 8/96, Schrumpfnieren	49	1,44	0,24
259	m	NTX 6/92 interstitielle Nephritis	41	1,45	0
289	m	NTX 9/93, unbekannt	70	1,45	0,46
57	f	NTX 8/86, Analgetika-Nephropathie	57	1,45	1,21
277	m	NTX 3/97, diabet. Nephropathie	70	1,46	0,63
106	m	NTX 4/87, Schrumpfnieren	38	1,48	0,67
284	f	NTX 4/95, RPGN	42	1,49	0
434	f	NTX 4/97, M. Wegener	53	1,49	0
149	m	NTX 9/92, Zystennieren	57	1,49	0,23
318	f	NTX 7/92, SLE	39	1,49	0,86
305	m	NTX 4/84, Schrumpfnieren	59	1,5	2
449	f	NTX 12/89, diabet. Nephropathie	66	1,51	0,27
456	m	NTX 5/91, Nephrosklerose	57	1,51	1,64
372	m	NTX 9/93, Schrumpfnieren	58	1,51	1,9
174	m	NTX 8/91, unbekannt	30	1,55	0,3
152	f	NTX 8/94, Schrumpfnieren	74	1,55	0,56
72	f	NTX 3/90, Schrumpfnieren	54	1,57	0
288	m	NTX 10/97, unbekannt	47	1,57	0,6
468	m	NTX 1/95, Schrumpfnieren	51	1,58	0,8
118	m	NTX 3/97, diabet. Nephropathie	66	1,6	0,99
458	f	NTX 6/91, unbekannt	49	1,61	0
287	m	NTX 8/96, Schrumpfnieren	32	1,62	0
39	f	NTX 5/97, Schrumpfnieren	62	1,62	0,26
95	m	NTX 5/97, Reflux-Nephropathie	20	1,64	0,59
125	m	NTX 9/87, diabet. Nephropathie	37	1,66	0

270	f	NTX 4/91, Zystennieren	64	1,66	1,09
326	f	NTX 1/94, Nierenzysten	24	1,68	0
341	f	NTX 1/94, unbekannt	39	1,68	3,12
448	m	NTX 11/89, RPGN bei FSGS	28	1,69	0
63	m	NTX 11/83, unbekannt	38	1,7	0,48
186	m	NTX 11/93, Good-pasture	40	1,71	1,98
73	m	NTX, 12/94, Zystennieren	58	1,72	0
486	f	NTX 5/95, Poststreptokokken-GN	34	1,72	0,31
169	m	NTX 5/96, Schrumpfnieren	57	1,74	0,31
422	m	NTX 4/86, Schrumpfnieren	61	1,74	3,03
373	m	NTX 7/89, diabet. Nephropathie	70	1,82	0,29
363	m	NTX 7/85, diabet. Nephropathie	51	1,82	2
181	f	NTX 11/97, diabet. Nephropathie	34	1,83	0,19
165	m	NTX 7/95, FSGS	43	1,84	0,29
5	f	NTX 7/90, membranöse GN	57	1,85	13,2
80	m	NTX 6/95, FSGS	44	1,86	0
28	m	NTX 9/91, diabet. Nephropathie	54	1,86	0,44
40	m	NTX 10/87, Pyelonephritis	71	1,87	6,2
156	f	NTX 10/86, Zystennieren	57	1,88	5,84
476	m	NTX 4/90, Analgetika Nephropathie	52	1,89	0,16
427	m	NTX 10/96, Nephrosklerose	62	1,93	0
290	m	NTX 6/95, Nephrosklerose	55	1,97	3,95
443	m	NTX 12/90, Membranöse GN	56	2,03	0
8	m	NTX 1/97, Schrumpfnieren	43	2,04	0
295	f	NTX 2/88, Schrumpfnieren	60	2,04	0,84
382	f	NTX 12/93, diabet. Nephropathie	59	2,05	0,6
65	f	NTX 3/90, Schrumpfnieren	45	2,05	3,94
265	m	NTX 1/89, IgA-Nephritis	46	2,06	9,68
29	f	NTX 12/93, diabet. Nephropathie	41	2,07	0,97
320	m	NTX 10/94, membranöse GN	54	2,09	8,06
461	m	NTX 7/96, FSGS	42	2,1	0,22
336	m	NTX 12/97, Schrumpfnieren	55	2,1	0,28
88	m	NTX 12/96, Z.n. ANV	46	2,11	0,81
337	m	NTX 2/90, Zystennieren	57	2,15	0,24
276	m	NTX 12/87, Schrumpfnieren	34	2,18	5,06
483	m	NTX 9/91, Schrumpfnieren	31	2,2	0
142	m	NTX 10/95, Zystennieren	49	2,2	0,87
280	m	NTX 12/83, chron. Pyelonephritis	61	2,22	0,6
430	m	NTX 4/91, Schrumpfnieren	61	2,24	0,25
23	m	NTX 11/91, Hydronephrose	47	2,25	1,26
343	m	NTX 9/88, Schrumpfnieren	68	2,26	3,34

283	m	NTX 9/93, FSGS	64	2,34	0
340	m	NTX 3/88, diabet. Nephropathie	67	2,36	0
111	m	NTX 9/92, FSGS	73	2,43	0
105	m	NTX 12/89, diabet. Nephropathie.	73	2,45	0,44
148	f	NTX 4/96, Schrumpfnieren	24	2,49	2,1
180	m	NTX 1/86, Zystennieren	68	2,6	0,24
352	m	NTX 4/95, Nierenagenesie links	53	2,65	0,27
494	m	NTX 9/89, Schrumpfnieren	68	2,73	0,27
160	m	NTX 8/94, Nephrosklerose	54	2,8	0,76
325	m	NTX 12/91, Schrumpfnieren	34	2,88	1,58
370	f	NTX 12/96, Schrumpfnieren	46	2,9	1,36
431	m	NTX 5/85, unbekannt	38	2,9	1,4
116	m	NTX 3/66, Schrumpfnieren	59	2,98	2,17
158	f	NTX 6/86, Schrumpfnieren	69	3,11	0,84
121	m	NTX 4/94, unbekannt	62	3,13	4,68
291	f	NTX 6/86, unbekannt	49	3,14	1,8
188	m	NTX 4/90, Zystennieren	56	3,17	2,93
114	m	NTX 12/92, interstitielle Nephritis	65	3,21	2,84
263	m	NTX 1/87, unbekannt	47	3,23	0,74
164	m	NTX 6/90, Schrumpfnieren	48	3,37	2
115	f	NTX 10/91, Schrumpfnieren	47	3,43	2,66
368	m	NTX 10/89, Schrumpfnieren	45	3,56	8,5
273	m	NTX 5/91, FSGS	52	3,71	0,86
257	m	NTX 10/88, Schrumpfnieren	68	3,92	4,8
433	m	NTX 6/85, RPGN	28	4,17	4,19
267	m	NTX 2/92, unbekannt	34	4,4	3,43
185	m	NTX 6/90, Schrumpfnieren	58	5,45	2,24
262	f	NTX 5/88, Analgetika-Nephropathie	62	5,48	2,66
183	m	NTX 5/96, Good-Pasture-GN	36	5,65	0,94
260	f	NTX 3/93, Zystennieren	47	5,92	13,8
113	m	NTX 12/91, Schrumpfnieren	46	6,15	3,28

*Tabelle II: Klinische Daten der Patienten nach Nierentransplantation*