

Aus der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der
Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Ischemic Type Biliary Lesions (ITBL) nach orthotoper
Lebertransplantation – Spielen donorspezifische HLA-
Antikörper pathophysiologisch eine Rolle?

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Katharina Schulte

aus Berlin

Datum der Promotion: 09.09.2016

Das Ganze ist mehr als die Summe seiner Teile.
– Aristoteles

Quidquid agis, prudenter agas et respice finem.

Inhaltsverzeichnis

Abstrakt	7
Abstract	8
1. Einleitung	10
1.1 ITBL	10
1.1.1 Allgemeines.....	10
1.1.2 Diagnostische Verfahren	11
1.1.3 Risikofaktoren	14
1.2 Hypothesen	18
1.2.1 Primärhypothese	18
1.2.2 Sekundärhypothesen	18
2. Methoden	19
2.1 Evaluierung der Empfänger	19
2.2 Auswahl der Patientengruppen	21
2.2.1 Diagnosestellung der ITBL.....	21
2.2.2 Auswahl der Patientengruppe	22
2.2.3 Fallzahlverlauf der Patientengruppe	22
2.2.4 Auswahl der Kontrollgruppe	23
2.3 Studiendesign	23
2.4 Beschreibung der Empfänger	24
2.4.1 Biographisch-soziologische Parameter	24
2.5 Beschreibung der Spender	24
2.5.1 Biographisch-soziologische und infektiologische Parameter	24
2.5.2 Spenderorgane	24
2.6 Perioperative Parameter	25
2.6.1 Präoperative Parameter	25
2.6.2 Intraoperative Parameter	25
2.6.3 Postoperative Parameter	26
2.7 Immunologische Spender- und Empfängercharakterisierung	26
2.7.1 Blutgruppensystem	26
2.7.2 HLA-Typisierung und Techniken zum Nachweis von HLA–Antikörpern	26

2.7.2.1 Luminex-Test	27
2.7.2.2 Lymphozytotoxizitätstest	27
2.7.2.3 Crossmatch-Test	28
2.7.3 Spezifität von HLA-Antikörpern	28
2.8 Laborchemische Parameter	29
2.9 Therapieverlauf	29
2.10 Statistische Auswertung	30
3. Ergebnisse	31
3.1 Ergebnisse der biographisch-soziologischen Parameter	31
3.1.1 Biographisch-soziologische Parameter der Empfänger	31
3.1.2 Biographisch-soziologische Parameter und Todesursachen der Spender	32
3.1.3 Indikationen zur Lebertransplantation	33
3.2 Ergebnisse der operativen Parameter	34
3.2.1 Blutgruppen	34
3.2.2 Präoperative Parameter	34
3.2.3 Intraoperative Parameter	35
3.2.4 Postoperative Parameter	35
3.2.5 Radiologische Darstellung der T-Drainage	36
3.2.6 Laborchemische Parameter	38
3.3 Ergebnisse der HLA-Typisierung	43
3.3.1 Präoperativer HLA-Status	43
3.3.2 DSA-Status	43
3.3.3 NDSA-Status	44
3.4 Diagnosezeitpunkt ITBL	45
3.5 Interventioneller Therapieverlauf	46
3.6 Postoperatives Transplantat-Überleben	47
3.7 Postoperatives Patienten-Überleben	48
3.8 Einfluss von Kovariaten auf das Auftreten von DSA	49
3.9 Ergebnisse der Fragestellungen	50
3.9.1 Überprüfung der Primärhypothese	50
3.9.2 Überprüfung der Sekundärhypothesen	50
3.9.2.1 Sekundärhypothese I	50
3.9.2.2 Sekundärhypothese II	51

4. Diskussion	52
4.1 HLA-, DSA- und NDSA-Status	53
4.1.1 Präoperativer HLA-Status	53
4.1.2 DSA-Status	54
4.1.3 NDSA-Status	57
4.2 Einfluss perioperativer Parameter	57
4.3 Interventioneller Therapieverlauf und Langzeitüberleben	61
4.4 Kovariaten	61
4.5 Limitationen der Studie	62
4.5.1 Gruppengröße und Fallzahlen	62
4.5.2 Screening und Nachkontrollen	62
4.5.3 HLA-Kontrollen	63
4.6 Schlussfolgerung und Ausblick	63
Abkürzungsverzeichnis	64
Tabellenverzeichnis	66
Abbildungsverzeichnis	67
Literaturverzeichnis	68
Eidesstattliche Versicherung	74
Lebenslauf	75
Danksagung	76

Abstrakt

Einleitung: Biliäre Komplikationen stellen nach Lebertransplantation (LTX) trotz der in den letzten Jahren erzielten Fortschritte ein schwerwiegendes klinisches Problem dar. Hierunter haben sich die Ischemic Type Biliary Lesions (ITBL) als besondere Herausforderung erwiesen und sind für einen hohen Anteil von Morbidität und Mortalität bei Gallengangs-assoziierten Komplikationen verantwortlich.

Eine immunologische Komponente als Ursache der Entstehung der ITBL ließe sich durch den Nachweis von donorspezifischen Human Leukocyte Antigen Antikörper (HLA) bestärken und die Frage hinsichtlich eines prä- und postoperativen HLA-Screenings aufkommen.

Methoden: In unserer prospektiv angelegten Datenbank untersuchten wir ITBL-Patienten (n=15), bei denen in einem Zeitraum von Februar 2008 bis Oktober 2011 eine LTX durchgeführt worden war, hinsichtlich ihres präoperativen HLA-Status und ihres postoperativen donorspezifischen HLA-Antikörperstatus (DSA) und verglichen diese mit einer Kontrollgruppe ohne ITBL (n=15). Die Auswertung des HLA/DSA-Status und verschiedener klinischer Variablen erfolgte durch statistische Analysen.

Ergebnisse: Die statistischen Auswertungen zeigten einen signifikant höheren Anteil von de novo DSA ($p=0,003$) nach LTX in der ITBL-Gruppe. In der Kontrollgruppe traten im Vergleich zu der ITBL-Gruppe signifikant häufiger de novo nicht-donorspezifische Antikörper im postoperativen Verlauf auf ($p=0,035$). Wir fanden keine signifikanten Unterschiede in der Präsenz präformierter HLA vor LTX zwischen beiden Gruppen ($p=0,224$). Die alkalische Phosphatase war postoperativ in der ITBL-Gruppe zu verschiedenen Messzeitpunkten signifikant höher als in der Kontrollgruppe.

Schlussfolgerung: ITBL-Patienten zeigten nach LTX signifikant häufiger de novo DSA als die Kontrollgruppe ($p=0,003$). Dies zeigt die Wichtigkeit regelmäßiger postoperativer Kontrollen des DSA-Status, um frühzeitig diagnostisch und therapeutisch zu intervenieren. Die postoperative Erhöhung der alkalischen Phosphatase nach LTX in Verbindung mit de novo DSA könnte ein Marker für die Entstehung biliäre Komplikationen sein.

Abstract

Introduction: Liver transplantations are the only curable treatment for a wide spectrum of liver diseases when other therapeutic options have failed. Despite recent surgical developments biliary complications following orthotopic liver transplantation (OLT) are an important cause of morbidity and mortality.

Ischemic Type Biliary Lesions (ITBL) are particularly challenging and responsible for a high proportion of mortality and morbidity of bile-duct associated complications following OLT. We aimed to better predict and reduce the incidence of ITBL through detection of donor specific Human Leucocyte Antibody(HLA)-antibodies that could be involved in the pathogenesis of this disease. This would allow a standardised pre- and post-operative HLA-screening, which is already known to be important for kidney, heart and lung transplantations.

Methods: We reviewed our prospectively kept database of ITBL-patients (n=15) that had undergone OLT from February 2008 to October 2011. Clinical parameters, biochemical data including pre-operative HLA-status and their post-operative donor specific antibody(DSA)-status, complications, morbidity and mortality were studied. The ITBL-patients were matched in a 1:1 ratio accounting for demographic and clinical variables to a control cohort of OLT patients. Propensity modelling with matched cohort analysis was employed.

Results: There is a significance between the detection of de novo DSA and the development of an ITBL ($p=0,003$). The control group showed a significant higher proportion of de novo non-donor specific antibodies in the postoperative course ($p=0,035$). There were no significant differences in the presence of preformed HLA before OLT between the two groups ($p=0,224$). Alkaline phosphatase was postoperatively significantly higher in the ITBL-Group.

Conclusion: There is a strong relationship between de novo DSA and future development of ITBL. This implies a need for a protocolisation of care with standardised postoperative DSA-status allowing earlier diagnosis and therapeutic

intervention. Future work needs to look at the clinical relevance of de novo DSA and biliary complications in ITBL.

1. Einleitung

Die Lebertransplantation (LTX) stellt für Lebererkrankungen im fortgeschrittenen Stadium der Leberzirrhose und protrahierter Funktionsstörung die einzige kurative Behandlungsoption dar^{1,2}. Trotz erzielter Fortschritte gelten biliäre Komplikationen nach LTX weiterhin als ein schwerwiegendes klinisches Problem^{3,4}. Insbesondere die Ischemic Type Biliary Lesions (ITBL) haben sich als besondere Herausforderung erwiesen und sind für einen hohen Anteil von Morbidität und Mortalität bei Gallengangs-assoziierten Komplikationen verantwortlich⁵.

Trotz zunehmender Forschung existiert bis dato kein eindeutiges Entstehungsmodell für ITBL. Für das Auftreten einer ITBL wird eine multifaktorielle Genese diskutiert.

1.1 ITBL

1.1.1 Allgemeines

Die ITBL wird als nicht-ischämische Destruktion der Gallengänge der Spenderleber als Komplikation nach Lebertransplantation definiert³.

Sie ähnelt einer Durchblutungsstörung des Gallenwegssystems im Sinne einer ischämischen Gallengangsläsion (IBL). In Abgrenzung zur IBL wird die ITBL allerdings definitionsgemäß nicht durch eine arterielle Durchblutungsstörung ausgelöst, sondern entspricht einer chronischen Entzündung der Gallenwege.

Histopathologische Veränderungen zeigen sich in Form von intrahepatischen Strikturen und Dilatationen in Abwesenheit von Thrombosen oder Stenosen der Arteria Hepatica, portalen Thrombosen, chronischer duktopenischer Rejektion oder primär sklerotisierender Cholangitis⁶.

Eine Klassifikation der ITBL wurde basierend auf der Lokalisation der Läsionen des Gallenbaums aufgestellt:

- Typ I = extrahepatische Läsionen,
- Typ II = intrahepatische Läsionen,
- Typ III = intra- und extrahepatische Läsionen⁷.

Die beschriebene Inzidenz für ITBL nach LTX variiert in der Literatur zwischen einem und 26 Prozent^{3,8-10}.

Klinische Symptome können sich in Fieber, abdominellen Beschwerden oder Cholestase äußern. Initial kann es zu einer asymptomatischen Erhöhung der gamma-Glutanyltransferase (GGT) und/oder der alkalischen Phosphatase (AP) im Serum kommen¹¹. Ebenfalls charakteristisch sind postoperative Erhöhungen der Aspartat-Aminotransferase (ASAT) und der Alanin-Aminotransferase (ALAT) im Serum^{8,12}.

1.1.2 Diagnostische Verfahren

Die Standardverfahren zur Diagnose der ITBL umfassen eine direkte Visualisierung der Gallengänge über die T-Drainage, die endoskopisch retrograde Cholangiopankreatikographie (ERC, Abb. 1 und 2) oder die perkutane transhepatische Cholangiographie (PTCD, Abb. 3)^{9,10,13,14}. In einigen Fällen wird zur Diagnosesicherung eine Magnetresonanz-Cholangiopankreatikographie (MRCP) durchgeführt (Abb. 4)¹⁴⁻¹⁶.

Cholangiographisch geht die ITBL mit ischämischem oder nekrotischen Gallengängen und Irregularitäten der Mukosa, Stenosen, Dilatationen oder intraduktalen Unregelmäßigkeiten einher¹⁷.



Abbildung 1 ITBL nach LTX in der Cholangiographie mit Strikturen und Dilatationen der Cholangien¹⁸



Abbildung 2 Cholangiographie nach LTX mit normalem Gallengangssystem¹⁹

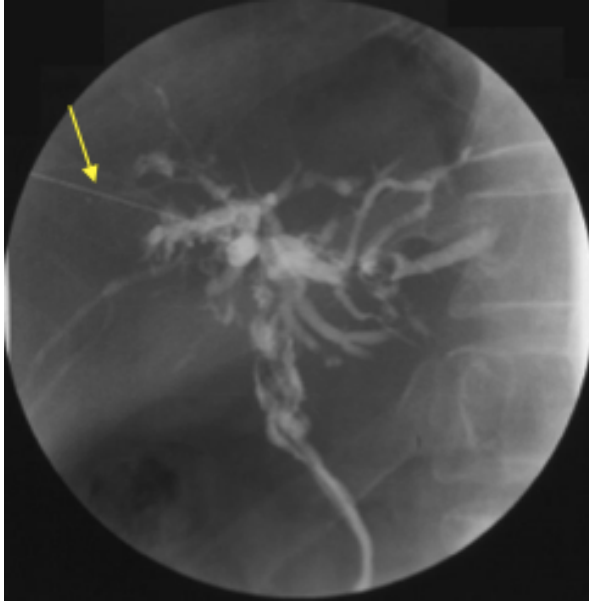


Abbildung 3 PTCD-Anlage bei einem Patienten mit ITBL ohne T-Drainage mit stark erweiterten Cholangien, Kalibersprüngen und intraduktalen Sequestern des Spendergallenganges¹⁹

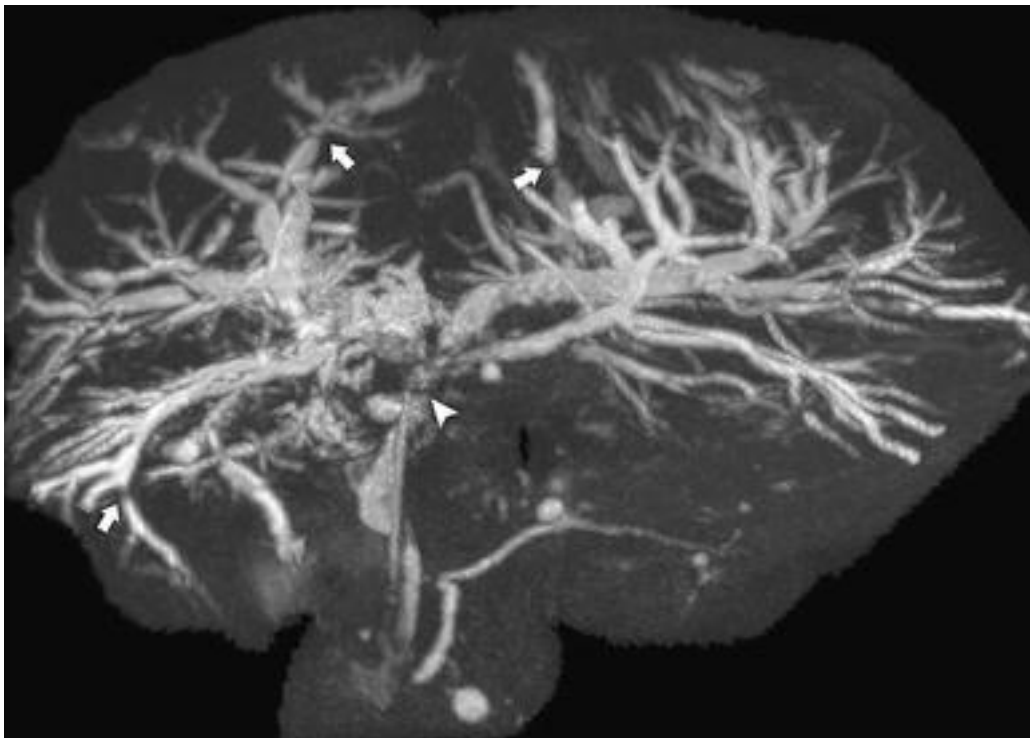


Abbildung 4 MRCP bei ITBL nach LTX, hiläre Stenosen (Pfeilkopf) mit multiplen diffusen intrahepatischen Dilatationen. Fokale Stenosen mit peripheren intrahepatischen Gallengängen (Pfeile)²⁰

1.1.3 Risikofaktoren

1.1.3.1 Donorspezifische HLA-Antikörper

Einige Studien beschreiben die Präsenz von donorspezifischen Human Leukocyte Antigen(HLA)-Antikörpern (DSA) als Risikofaktor für Transplantatverlust oder -Dysfunktionalität²¹⁻²³. Weiterhin werden DSA mit biliären Komplikationen in Verbindung gebracht²⁴. Auch die ITBL zählt zum Formenkreis biliärer Komplikationen. Somit kommen DSA ebenfalls als Risikofaktor für die Entwicklung einer ITBL in Frage.

Im Folgenden werden zunächst der Aufbau und die klinische Bedeutung von HLA und DSA erläutert.

1.1.3.2 Aufbau der HLA-Loci

Das HLA-System besteht aus zwei Antigenklasse. Diese repräsentieren den Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) des Menschen und sind auf dem kurzen Arm des sechsten Chromosoms kodiert (Abb. 5 und 6). Topographisch und funktional werden folgende Klassen unterschieden:

- Klasse-I-Antigene: HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, HLA-G
- Klasse-II-Antigene: HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR²⁵.

Die biologische Funktion der HLA-Moleküle ist die Antigenpräsentation. Bei körperfremden Substanzen wird eine Immunantwort ausgelöst. Nach einer Transplantation kann es dementsprechend zu einer immunologischen Abwehrreaktion und zur Abstoßung des Transplantats kommen.

Zytotoxische CD8-T-Lymphozyten sind dabei in erster Linie auf die Erkennung von HLA-Klasse I Antigenen spezialisiert und bewirken eine zelluläre Immunantwort durch die klonale Vermehrung von T-Lymphozyten²⁵.

MHC-Klasse II-Strukturen finden sich auf antigenpräsentierenden Zellen, dendritischen Zellen, Makrophagen und B-Lymphozyten. CD4-T-Lymphozyten interagieren mit

Antigenen, die auf HLA-Klasse-II-Molekülen präsentiert werden. Nach Aktivierung derer kommt es durch die Ausdifferenzierung von B-Lymphozyten zu Plasmazellen zu einer humoralen Immunantwort²⁶.

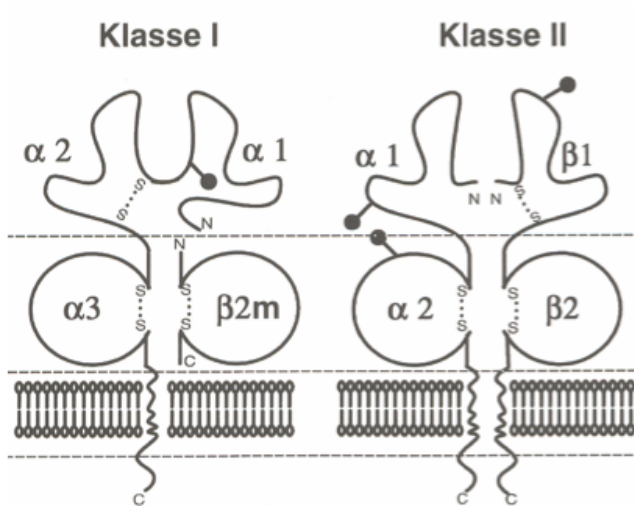


Abbildung 5 Sekundärstruktur von HLA-Klasse-I- und Klasse-II-Antigenen²⁶

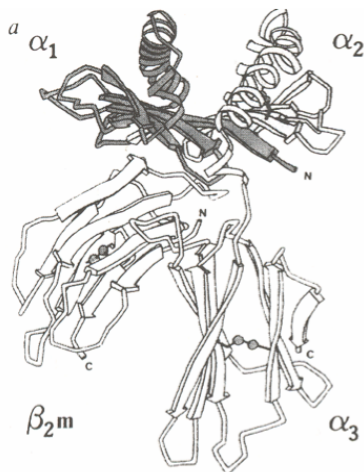


Abbildung 6 Tertiärstruktur von HLA-Klasse-I-Antigenen am Beispiel von HLA-A2²⁶

1.1.3.3 Bedeutung des HLA-Systems in der Transplantationsmedizin

Das HLA-System spielt eine wichtige Rolle bei Organ- und Stammzelltransplantationen. Studien haben den Zusammenhang zwischen der HLA-Übereinstimmung bei Spendern und Empfängern und der Organüberlebenszeit, insbesondere bei allogenen Organtransplantationen, beschrieben²⁷. Die Wichtigkeit der Übereinstimmung von HLA bei Nierentransplantationen ist mittlerweile gut belegt²⁸. Auf eine HLA-Zuordnung bei Herztransplantationen wird wegen der kurzen kalten Ischämiezeit in der Regel verzichtet. Dennoch zeigen retrospektive Untersuchungen eine Korrelation zwischen HLA-Übereinstimmung und einer längeren Überlebenszeit von Herz-Transplantaten²⁷. Auch bei Lebertransplantationen gewinnt die HLA-Testung zunehmend an Bedeutung²⁹.

1.1.3.4 Donorspezifische Antikörper und Lebertransplantationen

Eine HLA-Übereinstimmung wird durch zytotoxische Kreuztests, so genannte Crossmatches, festgestellt. Die Wichtigkeit von Crossmatches vor LTX wurde in früheren Studien zunächst bestritten^{30,31}. Neuere Studien zeigen jedoch eine Assoziation zwischen positiven Kreuztests und einem frühen Transplantverlust sowie einen negativen Effekt auf die Transplantatfunktionalität^{27,32,33}. Einige Studien empfehlen daher die standardisierte Bestimmung von DSA vor und nach LTX³⁴. Um den genauen Effekt von donorspezifischen Antikörpern auf LTX zu prüfen, wäre dementsprechend eine HLA-Typisierung aller Spender durch eine Bestimmung der Allel-Spezifität und eine Analyse des Empfänger-Serums mit sensitiven Solidphase-Assays notwendig³³.

Aktuelle Studien beschreiben die Mechanismen über die HLA pathologisch auf die Funktion des Transplantats wirken³⁵. In prospektiven Studien konnten bereits vor der Abnahme der Transplantatfunktion oder eines Transplantatverlusts DSA nachgewiesen werden³⁶⁻³⁹.

Der Einfluss präformierter HLA bei Lebertransplantationen wird bereits seit Langem diskutiert^{40,41}. Suehiro et al. wiesen eine signifikant niedrigere Überlebensrate bei 104 Lebertransplantationen von Lebendspendern mit positiven Crossmatches nach²⁹. Auch in anderen Studien waren HLA mit einem signifikant niedrigeren Transplantatüberleben assoziiert^{27,39}.

In der Studie von Goh et al. stand das Auftreten von HLA nicht im Zusammenhang mit der Ätiologie einer ersten Transplantatabstoßung. Allerdings waren HLA der Klasse I mit einer signifikant niedrigeren Funktionalität des zweiten Transplantats assoziiert³³. Bei Patienten mit Klasse I Antikörper bestand ein Jahr nach der Retransplantation eine Überlebensdifferenz im Vergleich zu Patienten ohne Klasse I Antikörpern³³. Fontana et al. assoziierten DSA nach LTX mit der Ausbildung biliärer Komplikationen²⁴.

In weiteren Studien sind insbesondere donorspezifische HLA mit schlechteren Outcomes und höheren Komplikationsraten assoziiert worden^{32,39,42}.

1.1.3.5 Weitere potentielle Risikofaktoren

Einige Studien bringen das ITBL mit verschiedenen immunologisch-vermittelten Prozessen wie ABO-inkompatiblen Lebertransplantationen, primär sklerosierender Cholangitis (PSC), Autoimmun-Hepatitis (AIH), Cytomegalievirus-Infektion (CMV), chronischer Abstoßung oder genetischen Polymorphismen von Chemokinen in Verbindung^{9,43,44}.

In anderen Studien korreliert die Länge der kalten Ischämiezeit (KIZ) mit dem Risiko der Entwicklung einer ITBL⁴³⁻⁴⁵. Die KIZ wird als Zeitspanne zwischen der Perfusion des Organs mit einer hypothermen Lösung nach Explantation und der Implantation in den Empfängersitus definiert.

Auch die zwischen der kompletten vaskulären Okklusion der Leber und Reperfusion im neuen Organismus liegende warme Ischämiezeit (WIZ) wird als Risikofaktor für die Ausbildung einer ITBL beschrieben^{46,47}. Einige Studien zeigen eine höhere Inzidenz von ITBL bei retrograder Reperfusion nach Transplantation im Vergleich zu einer antegraden Perfusion über die Portalvene^{48,49}.

Weitere wissenschaftliche Arbeiten verweisen auf eine Ischämie-getriggerte Schädigung des peribiliären vaskulären Plexus als einen Faktor bei der Entstehung der ITBL^{9,19,50}. In der Literatur wird die University of Wisconsin-Lösung (UW) insbesondere im Vergleich zur weniger viskösen Histidin-Thryptophan-Ketoglutarat-Lösung (HTK), als Risikofaktor für ITBL beschrieben^{50,51}.

1.2 Hypothesen

Ausgehend vom Literaturhintergrund richten wir unser Hauptaugenmerk auf den möglichen Zusammenhang zwischen ITBL und DSA. Weiterhin betrachten wir die weiteren potentiellen Einflussfaktoren und geben somit einen umfassenden Überblick über das Entstehungsmuster der ITBL.

Es lassen sich folgende Hypothesen formulieren:

1.2.1 Primärhypothese

- I. Patienten mit einer ITBL-Diagnose in unserem Patientenkollektiv weisen im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ohne ITBL häufiger DSA auf.

1.2.2 Sekundärhypothesen

- I. Es bestehen keine Unterschiede zwischen Patienten mit einer ITBL-Diagnose und einer Kontrollgruppe hinsichtlich der perioperativen Parameter.
- II. Die laborchemischen Parameter ASAT, ALAT, GGT und AP sind bei Patienten mit einer ITBL postoperativ höher als in der Kontrollgruppe.

2. Methoden

Zunächst wird der Evaluierungsprozess zur Lebertransplantation und die Patienten- und Kontrollgruppe beschrieben. Es werden das Auswahlverfahren, Ein- und Ausschlusskriterien sowie klinische und perioperative Aspekte der beiden Gruppen dargestellt. Weiterhin werden die operativen Aspekte der Lebertransplantation sowie die immunologischen Spender- und Empfängercharakterisierungen benannt.

Im letzten Abschnitt werden die datenanalytischen Auswertungsmethoden beschrieben.

2.1 Evaluierung der Empfänger

Die Indikation zur Lebertransplantation wurde an der Charité Campus Virchow-Klinikum im Rahmen eines standardisierten interdisziplinären Untersuchungsverfahrens gestellt. Dieses beinhaltete die Sicherung der Indikation und eine klinische Untersuchung⁵² (Tab. 1 und 2). Darüber hinaus wurden laborchemische, mikrobiologische, radiologische und konsiliarische Untersuchungen zum Ausschluss relevanter Nebenerkrankungen und spezifischer Kontraindikationen durchgeführt.

Bei einem akuten Leberversagen umfassten die Untersuchungen lediglich eine radiologische Bildgebung und sowie den Ausschluss kardiopulmonaler Kontraindikationen.

Tabelle 1 Indikationen zur LTX⁵²

Weitere Indikationen zur LTX
Bilirubin >170 µmol/L / >6 Monate oder ein Serumalbumin <2,5 mg/L
Starker Pruritus und/oder Lethargie
Lebenserwartung <12 Monate ohne LTX
Komplikationen (Enzephalopathie, hepatozelluläres Karzinom, therapierefraktärer Aszites oder rezidivierende spontan bakterielle Peritonitis)

Tabelle 2 Evaluierungsuntersuchungen vor der LTX am Virchow-Klinikum Berlin⁵²

Obligate Untersuchungen	Fakultative Untersuchungen
Sonographie/Computertomographie-Abdomen	ERC
Röntgen: Thorax, Beckenwirbelsäule	Magnetresonanztomographie-Abdomen,
Lendenwirbelsäule,	Computertomographie-Thorax,
Orthopantomographie, Knochendichte	Echokardiographie, Herzkatheter
Ösophago-Gastro-Duodenoskopie	Koloskopie
Coeliacographie, indirekte Spleno-Portographie	Konsiliarische Untersuchungen:
Elektrokardiogramm, Spirometrie	Psychosomatik, Urologie, Gynäkologie,
Blutzucker-Tagesprofil	Augenheilkunde
Laboruntersuchungen:	
Klinische Chemie, Enzyme,	
Leberfunktionsparameter, Endokrinologie,	
Differentialblutbild, Hämostaseserologie,	
Kreatinin-Clearance, Urinchemie, Hepatitis-Serologie, Tumormarker,	
infektiologisches/immunologisches	
Screening, Hormonanalytik, HLA-	
Typisierung	
Konsiliarische Untersuchungen:	
Kardiologie, Neurologie, Hepatologie, Hals-	
Nasen-Ohrenheilkunde, Anästhesie,	
Zahnmedizin	

2.2 Auswahl der Patientengruppen

2.2.1 Diagnosestellung der ITBL

Die Diagnose einer ITBL wird gestellt, wenn andere Ursachen wie eine arterielle Thrombose, AB0-Inkompatibilität oder das Vorliegen einer PSC als Symptomursachen ausgeschlossen werden können.

Intraoperativ werden Spender- und Empfängergallengang in Seit-zu-Seit-Technik anastomosiert und über die Choledocho-Choledochostomie eine T-Drainage mit externer Ableitung durch die laterale Bauchwand eingelegt. Sie bietet die Möglichkeit Gallenflüssigkeit nach Quantität und Qualität zu beurteilen und stellt einen diagnostischen Zugang für eine radiologische Beurteilung der Gallengänge mittels Cholangiographie dar. Diese wird standardisiert am 5. postoperativen Tag durchgeführt.

Die Kriterien für die Diagnosestellung einer ITBL waren intrahepatische Dilatationen und Strikturen des Gallengangsystems mittels ERC oder PTCD (Tab. 3). Weiterhin wurden Thrombosen und Stenosen der Lebergefäße mittels Dopplersonographie zum Ausschluss einer IBL durchgeführt.

Tabelle 3 Kriterien für die Diagnosestellung einer ITBL

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none">• Ischämischem oder nekrotischen Gallengängen• Irregularitäten der Mukosa• Stenosen, Strikturen und Dilatationen des Gallenwegsystems• Intraduktale Unregelmäßigkeiten	<ul style="list-style-type: none">• Arterielle Thrombose• AB0-Inkompatibilität• PSC• IBL

2.2.2 Auswahl der Patientengruppe

Zwischen Februar 2008 und Oktober 2011 wurden insgesamt 492 Lebertransplantationen bei 394 Patienten an der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der Charité, Campus Virchow-Klinikum, durchgeführt. In die vorliegende Fall-Kontroll-Studie wurden insgesamt 15 Patienten eingeschlossen, die im postoperativen Verlauf nach LTX eine ITBL entwickelten. Die Einschlusskriterien der Patientengruppe werden in der Tabelle 4 zusammengefasst (Tab. 4).

Tabelle 4 Einschlusskriterien der ITBL-Gruppe

Einschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none">• Diagnose einer ITBL nach LTX• LTX an der Charité Campus Virchow Klinikum im Zeitraum zwischen Februar 2008 und Oktober 2011• Volljährigkeit zum Zeitpunkt der LTX

2.2.3 Fallzahlverlauf der Patientengruppe

Die prospektiv angelegte Datenbank wurde auf ITBL-Patienten nach LTX im beschriebenen Zeitraum durchsucht. Der Fallzahlverlauf der Patienten ist in Abbildung 7 dargestellt.

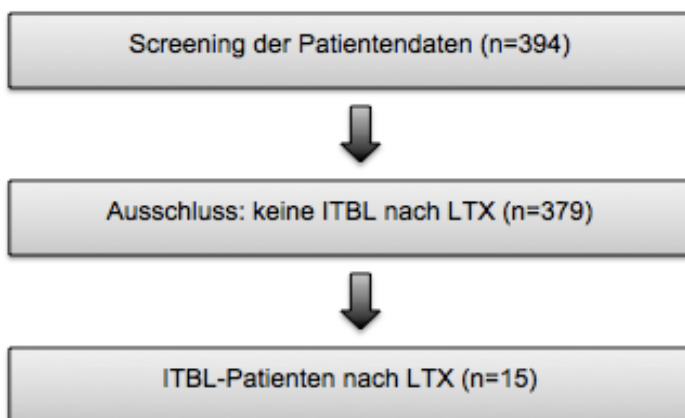


Abbildung 7 Fallzahlverlauf der ITBL-Gruppe

2.2.4 Auswahl der Kontrollgruppe

Den ITBL-Patienten wurde eine randomisierte Kontrollgruppe von Lebertransplantierten der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der Charité Campus Virchow-Klinikum desselben Zeitraums parallelisiert zugeordnet.

Die Patienten der Kontrollgruppe wiesen entsprechend der Ein- und Ausschlusskriterien (Tabelle 5) keine ITBL nach der LTX auf und stimmten in Alter, Geschlecht sowie Alter des Spenders und Spendergeschlecht mit der ITBL-Gruppe überein (Tabelle 6). Die Verteilung der Patienten auf die Studienarme erfolgte im Verhältnis 1:1.

Tabelle 5 Ein- und Ausschlusskriterien der Kontrollgruppe

Einschlusskriterien der Kontrollgruppe	Ausschlusskriterien der Kontrollgruppe
<ul style="list-style-type: none">• Erst-LTX am Campus Virchow-Klinikum im Zeitraum von Februar 2008 bis Oktober 2011• Volljährigkeit zum Zeitpunkt der LTX• Erfüllung der Matching-Kriterien (s.u.)• erhobener HLA-Status im Verlauf	<ul style="list-style-type: none">• ITBL• keine Volljährigkeit zum Zeitpunkt der LTX

Tabelle 6 Matching-Kriterien der Kontrollgruppe

Übereinstimmende Parameter der Kontrollgruppe mit der ITBL-Gruppe
<ul style="list-style-type: none">• Geschlecht des Empfängers• Alter des Empfängers (+/- 6 Jahre)• Geschlecht des Spenders• Alter des Spenders. (+/- 7 Jahre)

2.3 Studiendesign

Es handelt sich um eine retrospektive Datenanalyse mit explorativem Charakter zur Evaluierung der Assoziation von ITBL und der Präsenz von HLA und DSA. Es werden biographisch-soziologische, infektiologische sowie perioperative und laborchemische Variablen (GGT, ASAT, ALAT, AP) der Patienten mit ITBL-Diagnose und der parallelisierten Kontrollgruppe verglichen.

2.4 Beschreibung der Empfänger

2.4.1 Biographisch-soziologische Parameter

Es wurden alle Patienten des Patientenkollektivs mit ITBL-Diagnose in die Fall-Kontroll-Studie eingeschlossen und mit randomisierten Kontroll-Patienten ohne ITBL-Diagnose in Alter (+/- 6 Jahre) und Geschlecht zugeordnet.

Tabelle 7 Biographisch-soziologische Parameter der Empfänger

Alter des Empfängers
Geschlecht

2.5 Beschreibung der Spender

2.5.1 Biographisch-soziologische und infektiologische Parameter

Die Spender der ITBL-Gruppe und der Kontrollgruppe wurden bezüglich der Parameter Alter, Geschlecht und des Vorliegens einer CMV-Infektion verglichen (Tab. 8).

Tabelle 8 Biographisch-soziologische und infektiologische Parameter der Spender

Alter des Spenders
Geschlecht
CMV-Infektion

2.5.2 Spenderorgane

Die Zuteilung der Spenderorgane erfolgte durch die Organisation "Eurotransplant". Verschiedene Kriterien wie der erwartete Erfolg der LTX, die festgelegte Dringlichkeit, die Wartezeit und die nationale Organaustauschbilanz spielen bei der Organakzeptanz eine Rolle⁵². Die definitive Beurteilung des Organs erfolgt während der Organentnahme durch Inspektion und Palpation sowie der Beurteilung der Perfusionsqualität.

2.6 Perioperative Parameter

2.6.1 Präoperative Parameter

Zur Einschätzung des Schweregrades der Lebererkrankung und der Überlebenschancen wurde das Model for Endstage Liver Disease Score (MELD-Score) verwendet. Dieser wird anhand der Laborparameter Serum-Bilirubin, Serum-Kreatinin sowie der Blutgerinnungszeit in Form der International Normalized Ratio (INR) gemessen und nach folgender Formel berechnet:

$$\text{MELD} = 10 \times (0,957 \times \ln(\text{Serum-Kreatinin}) + 0,378 \times \ln(\text{Bilirubin gesamt}) + 1,12 \times \ln(\text{INR}) + 0,643).$$

Die Patientengruppen wurden in präoperativen MELD-Score, der Perfusionslösung des explantierten Organs und der Todesursache des Spenders verglichen (Tabelle 9).

Tabelle 9 Präoperative Parameter

Präoperative Variablen
MELD-Score
Perfusionslösung
Todesursache Spender

2.6.2 Intraoperative Parameter

Die Patientengruppen wurden bezüglich intraoperativer Parameter verglichen (Tabelle 10).

Tabelle 10 Intraoperative Parameter

Intraoperative Variablen
Kalte Ischämiezeit (min)
Warme Ischämiezeit (min)
Verabreichte Erythrozytenkonzentrate (Anzahl)
Verabreichtes Fresh Frozen Plasma (Anzahl)
Operationsdauer, gesamt (min)

2.6.3 Postoperative Parameter

Die Patientengruppen wurden bezüglich des postoperativen Verlaufs verglichen (Tab.11).

Tabelle 11 Postoperative Parameter

Postoperative Komplikationen

Aufenthaltsdauer Intensivstation Empfänger (Tage)

Aufenthaltsdauer Intensivstation Spender (Tage)

Hospitalisierungsdauer des Empfängers (Tage)

Darstellung der T-Drainage postoperativ

2.7 Immunologische Spender- und Empfängercharakterisierung

Die Charakterisierung der immunologischen Kompatibilität von Spenderorgan und Empfänger beinhaltete die Kontrolle des AB0-Blutgruppensystems sowie ein Crossmatch für B- und T-Zellen und die HLA-Typisierung in den Loci, A, B und DR.

Die HLA-Typisierung wurde im HLA-Labor der Charité, Campus Virchow-Klinikum unter der Leitung von Frau Dr. med. Schönemann durchgeführt und wird im Folgenden detailliert beschrieben, da sich die Vorgehensweise möglicherweise von anderen Laboren unterscheidet.

2.7.1 Blutgruppensystem

Die ITBL- und die Kontrollgruppe wurden hinsichtlich der Blutgruppen-Kompatibilität mit ihrem jeweiligen Spender miteinander verglichen.

2.7.2 HLA-Typisierung und Techniken zum Nachweis von HLA-Antikörpern

Die Verträglichkeit des Spenders wurde, präoperativ durch den Luminex-Test geprüft. Fiel dieser Test negativ aus, so wurde von einer Kompatibilität des Spenders mit dem Empfänger ausgegangen. Bei einem positiven Ergebnis wurde ein Lymphozytotoxizitätstest (LCT-Test) durchgeführt, um die HLA-Antikörper differenziert zu bestimmen.

Die Verträglichkeit des Spenders wurde in einer sogenannten Crossmatch-Untersuchung geprüft. Diese wurde retrospektiv nach der LTX ausgeführt und ausgewertet und hatte auf die Entscheidung zur Transplantation keinen unmittelbaren Einfluss.

2.7.2.1 Luminex-Test

Beim Luminex-Test werden kleine Polystyrolpartikel, so genannte Mikrosphären oder Beads, verwendet. Die verschiedenen Beads werden mit 20µl Serum inkubiert. Dabei bindet sich jeder Bead-Typ an sein spezifisches Zielmolekül. Nach 30 Minuten Inkubationszeit bei Raumtemperatur erfolgt der erste Waschgang. Anschließend werden 100µl anti-human-IgG-Phycoerythrin hinzugefügt und weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Im Anschluss erfolgt der zweite Waschgang.

Die an die Oberfläche der Beads gebundenen Moleküle werden in einem weiteren Inkubationsschritt mit 80µl phosphatgepufferter Salzlösung markiert. Der Menge des gebundenen Analysematerials verhält sich gegenüber der Fluoreszenzintensität direkt proportional. Dadurch kann die Bindungsreaktion quantifiziert werden.

Im Luminex-Analysesystem werden die Beads hinsichtlich ihrer Fluoreszenz analysiert und ausgewertet.

2.7.2.2 Lymphozytotoxizitätstest

Der LCT-Test wurde vor der LTX durchgeführt, wenn der vorausgegangene Luminex positiv war.

Im Rahmen der Untersuchung des Immunisierungsgrades gegen HLA-Antigene von Patienten reagiert das Patientenserum mit einem Zellpanel von Spenderlymphozyten.

30 Zelltafeln werden mit je 1µl mit circa 2000-4000 Spenderlymphozyten und 1µl Empfängerserum bei Raumtemperatur für 30 Minuten inkubiert. Anschließend werden 5µl Kaninchenkomplement hinzugefügt und für 60 Minuten inkubiert. Dadurch werden die Antikörper aktiviert. Dies führt gegebenenfalls zu einer Beschädigung der Lymphozyten, die nach Bindung eines Farbstoffs im Fluoreszenzmikroskop identifiziert

werden können. Es werden 3µl Stopp- und Färbelösung (Acridinorange und Eosin) hinzugefügt und unter dem Fluoreszenzmikroskop betrachtet. Lysierte Zellen färben sich durch das Eosin rot. Lebende Zellen werden durch das Acridinorange grün angefärbt.

2.7.2.3 Crossmatch-Test

Der Crossmatch-Test wurde retrospektiv nach LTX durchgeführt und war für die Transplantationsentscheidung nicht wegweisend.

Während des Crossmatch-Tests werden 1µl mit circa 2000-4000 Spenderlymphozyten mit 1µl Empfängerserum bei Raumtemperatur für 30 Minuten inkubiert. Anschließend werden 5µl Kaninchenkomplement hinzugefügt und nochmals für 60 Minuten inkubiert. Bei Antikörperaktivierung führt dies zu einer Beschädigung der Lymphozyten, was nach Bindung eines Farbstoffs im Fluoreszenzmikroskop identifiziert werden kann. Es werden 3µl Stopp- und Färbelösung (Acridinorange und Eosin) hinzugefügt und unter dem Fluoreszenzmikroskop betrachtet. Der Test wurde als „positiv“ gewertet, wenn mehr als 20% der jeweiligen Spenderlymphozyten während der Inkubation durch das Serum des Empfängers zerstört wurden.

2.7.3 Spezifität von HLA-Antikörpern

Bei der Bestimmung von serologischen Spezifitäten von HLA-Antikörpern lässt man die zu untersuchenden Seren mit einem möglichst großem Panel von Lymphozyten reagieren. Um anhand des „Reaktionsmusters“ Antikörperspezifitäten zu definieren, werden die Resultate maschinell ausgezählt (Tabelle 12).

Tabelle 12 Auswertung des Reaktionsmusters in Bezug auf eine Antikörperspezifität

	Reaktion -	Reaktion +
Antigen -	a	b
Antigen +	c	d

Wenn nur die Felder a (fehlende Reaktion des Serums mit einer Zelle, die kein Antigen trägt) b und d (vorhandene Reaktion des Serums mit einer Antigen-positiven Zelle)

belegt sind, geht man bei einem für die Antigenhäufigkeit ausreichend großen Panelumfang davon aus, dass eine entsprechende Spezifität vorliegt. Felder mit „diskordanten“ Resultaten haben die Bedeutung von „Zusatzreaktionen“ (Feld b) oder in Bezug auf eine angenommene Spezifität „fehlende Reaktionen“ (Feld c).

2.8 Laborchemische Parameter

Die Patientengruppen wurde bezüglich des Verlaufs der Laborparameter (GGT, AP, ASAT und ALAT) präoperativ (Tag 0) sowie postoperativ Tag 1-7, 14, 21 und 28 in einer varianzanalytischen Auswertung miteinander verglichen.

2.9 Therapieverlauf

Im Therapieverlauf wurden folgende Parameter der Gruppen verglichen:

- Interventionelle Diagnostik:
 - ERC
 - Stent-Einlage
 - Papillotomie
- Histologische Beurteilung:
 - Rejektionen
- Immunsuppressive Therapie:
 - Urbasonstoßtherapie
 - Plasmapherese

2.10 Statistische Auswertung

Die statistischen Auswertungsverfahren werden im Folgenden beschrieben. Auf die Ergebnisse der Datenanalyse wird in Kapitel 5 dieser Arbeit eingegangen.

Die Auswertung erfolgte mit den Programmen Excel und SPSS 20 (IBM Corporation, Data Collection, USA).

Patientendaten sowie peri- und intraoperative Variablen wurden analysiert und auf Signifikanzen getestet. Die Daten werden als Mittelwerte (M) \pm Standardabweichung (SD) und Reichweite (Minimum (Min)/Maximum (Max)) beziehungsweise als Mittelwerte (M) \pm Standardfehler (SE) dargestellt.

Alle Daten wurden auf eine Normalverteilung getestet. Die Auswertung parametrischer Daten erfolgte mit T-Tests bei unabhängigen Stichproben. Kategorische Daten wurden mit dem Chi-Quadrat Test analysiert. Nicht-parametrische Daten wurden mit exakten Tests nach Fisher, Chi-Quadrat Test oder Whitney Mann U Tests ausgewertet.

Die Auswertung multipler gruppierter Variablen (ASAT, ALAT, GGT, AP) wurde mittels einer Varianzanalyse mit Messzeitwiederholung (ANOVA) durchgeführt. Bei zwei oder mehr Mittelwerten wurden mit dem Bonferroni post hoc Test getestet, um Unterschiede zwischen den Gruppen zu messen.

Die Auswertung der Daten erfolgte mit einem Signifikanzniveau von Alpha $<0,05$. Werte kleiner als 0,05 wurden als signifikant gewertet. Nicht vorhandene Einzelwerte gingen als fehlende Werte in die Analyse ein.

Die Überlebensanalyse von Patienten und Organen erfolgte mit Hilfe des Kaplan-Meier-Schätzers. Signifikanzen wurden mit dem Log Rank (Mantel-Cox) Test ausgewertet.

Die Ergebnisse des Blutgruppensystems, der Todesursache des Donors und der Transplantationsindikationen wurden in Vergleichstabellen abgebildet.

3. Ergebnisse

In diesem Kapitel werden demographisch-soziologische und infektiologische Daten der ITBL- und Kontrollgruppe zusammengefasst. Anschließend werden die Ergebnisse der Primärhypothese und Sekundärhypothesen dargestellt.

Die Analysen wurden anhand der Rohdatensätze von 30 Patienten (15 ITBL-Patienten und 15 Kontrollpatienten) nach LTX ausgewertet. In den aufgeführten Tabellen wurde mit den Rohwerten gearbeitet.

3.1 Ergebnisse der biographisch-soziologischen Parameter

3.1.1 Biographisch-soziologische Parameter der Empfänger

Zum Transplantationszeitpunkt hatten die späteren ITBL-Patienten ein mittleres Alter von 58,8 Jahren (28–69 Jahre) versus (vs.) 57,1 Jahren (28–70 Jahre) in der Kontrollgruppe ($p=0,672$).

Der Anteil männlicher Patienten betrug 73,33% ($n=11$) vs. 26,67% weiblicher Patienten ($n=4$) in beiden Gruppen.

Die statistische Auswertung ergab keine signifikanten Unterschiede für CMV-Infektionen beider Gruppen ($p=0,642$).

Tabelle 13 Ergebnisse der biographisch-soziologischen Parameter der Empfänger

	ITBL-Gruppe ($n=15$)	Kontrollgruppe ($n=15$)	Signifikanz
Alter			
M(SD)	58,8 ($\pm 10,92$)	57,1 ($\pm 10,43$)	$p=0,672$
(Reichweite)	(28-69)	(28-70)	
Geschlecht			
männlich/weiblich	11/4	11/4	
CMV-Infektion			$p=0,642$
- ja	5	8	
- nein	4	3	
- unbekannt	6	4	

(Alter: T-Test; CMV-Infektion: Chi-Quadrat-Test)

3.1.2 Biographisch-soziologische Parameter und Todesursachen der Spender

Die Organspender der ITBL-Gruppe hatten zum Zeitpunkt ihres Todes ein mittleres Alter von 57,8 Jahren vs. 56,07 Jahren in der Kontrollgruppe (Tab. 14).

Die statistische Auswertung der soziologischen Daten der Spender beider Gruppen zeigte keine signifikanten Unterschiede in den Mittelwerten des Alters ($p=0,670$).

In beiden Gruppen waren jeweils acht männliche und sieben weibliche Spender.

Neun der 15 Organspender der ITBL-Gruppe verstarben an einer Subarachnoidalblutung (SAB). Zwei Spender erlitten ein Schädel-Hirn-Trauma (SHT), je ein Spender verstarb an zentraler Hypoxie, intrakraniellen Gefäßverschlüssen, Meningitis und an einer intrakraniellen Blutung (ICB).

In der Kontrollgruppe verstarben elf der Spender an einer SAB, zwei an einem SHT sowie zwei an zentraler Hypoxie (Tab. 15).

Tabelle 14 Ergebnisse der biographisch-soziologischen Parameter der Spender

	ITBL-Gruppe (n=15)	Kontrollgruppe (n=15)	Signifikanz
Alter Spender M(SD) (Reichweite)	57,8 ($\pm 11,01$) (48/79)	56,07 ($\pm 10,93$) (41/83)	$p=0,670$
Geschlecht männlich/weiblich	8/7	8/7	
CMV-Infektion			$p=0,778$
- ja	8	10	
- nein	4	5	
- unbekannt	3	-	

(Alter: T-Test; CMV-Infektion: Chi-Quadrat-Test)

Tabelle 15 Übersicht der Todesursachen der Spender

Todesursache	ITBL-Gruppe (n=15)	Kontrollgruppe (n=15)
Subarachnoidalblutung	9	11
Schädel-Hirn-Trauma	2	2
Hypoxie	1	2
Gefäßverschluss	1	-
Meningitis	1	-
Intrazerebrale Blutung	1	-

3.1.3 Indikationen zur Lebertransplantation

Die Ergebnisse des Gruppenvergleichs der Indikationen zur LTX der ITBL- und Kontrollgruppe wurden einander in einer Übersichtstabelle gegenüber gestellt (Tab. 16).

Tabelle 16 Indikation zur LTX

Indikation	ITBL - Gruppe (n=15)	ITBL - Gruppe (in %)	Kontroll- gruppe (n=15)	Kontroll- gruppe (in %)
Virale Zirrhose	0	0	1	6,6
- bei Hepatitis C Infektion	0		0	
- bei Hepatitis B Infektion	0		1	
Kryptogene Zirrhose	1	6,6	0	0
Ethyltoxische Zirrhose	1	6,6	5	33,3
HCC	8	53,3	6	40,0
- bei Hepatitis C Infektion	3		0	
- bei Hepatitis B Infektion	1		1	
- nutritiv-toxisch	1		3	
- kryptogen	1		2	
- nicht-alkoholische Steatohepatitis	1		0	
- Hämatochromatose	1		0	
Akutes Leberversagen	2	13,3	1	6,6
- medikamentös-toxisch	1		1	
- kryptogen	1		0	
Cholestatische Lebererkrankung	1	6,6	1	6,6
- sekundär sklerosierende Cholangitis	1		0	
- primär biliäre Cholangitis	0		1	
Vaskuläre Lebererkrankung	2	13,3	0	0
- Morbus Osler				

3.2 Ergebnisse der operativen Parameter

3.2.1 Blutgruppen

Im ABO-Blutgruppensystem waren in der ITBL-Gruppe Spender und Empfänger in allen Fällen identisch. Der Rhesus-Faktor stimmte in 14 von 15 Fällen überein.

In der Kontrollgruppe erfolgte die LTX bei 13 Patienten mit einer dem Spender identischen Blutgruppen, in zwei Fällen war die Blutgruppe kompatibel (Patient mit Blutgruppe A/B auf Blutgruppe 0). Der Rhesusfaktor stimmte in 13 Fällen von 15 Fällen überein.

3.2.2 Präoperative Parameter

Der MELD-Score in der ITBL-Gruppe betrug 23,46 vs. 20,5 in der Kontrollgruppe. Die statistische Auswertung zeigte keine signifikanten Unterschiede in den Mittelwerten des MELD-Scores zwischen beiden Gruppen ($p=0,550$, Tab. 17).

Die Perfusion des Organs erfolgte in der Gruppe der ITBL-Patienten ausschließlich mit HTK-Lösung, in der Kontrollgruppe wurden zwei Organe mit UW-Lösung, die anderen ebenfalls mit HTK-Lösung perfundiert. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied bezüglich der Verwendung der Perfusionslösungen ($p=0,483$, Tab. 19).

Tabelle 17 Ergebnisse der präoperativen Parameter

Präoperative Variablen	ITBL-Gruppe (n=15)	Kontrollgruppe (n=15)	Signifikanz
MELD-Score			
M (SD)	23,46 ($\pm 12,37$)	20,5 ($\pm 10,11$)	$p=0,550$
Reichweite	(6-40)	(7-40)	
Perfusionslösungen			$p=0,539$
- HTK	15	13	
- UW	0	2	

(MELD-Score, Perfusionslösung: Mann-Whitney U Test)

3.2.3 Intraoperative Parameter

Im Vergleich der ITBL- mit der Kontrollgruppe zeigten keine signifikanten Unterschiede in der KIZ ($p=0,251$), WIZ ($p=0,756$) der Operationsdauer (OP-Dauer; $p=0,713$) sowie der Anzahl verwendeter Erythrozyten-Konzentrate (EK; $p=0,838$) und Fresh Frozen Plasma (FFP; $p=0,870$) (Tab. 18).

Tabelle 18 Ergebnisse der intraoperativen Parameter

Intraoperative Variablen	ITBL-Gruppe	Kontrollgruppe	Signifikanz
Kalte Ischämie (min)			
M (SD)	635,2 ($\pm 225,05$)	506,36 ($\pm 128,87$)	$p=0,251$
Reichweite	(300-1043)	(300-720)	
Warme Ischämie (min)			
M (SD)	40,8 ($\pm 14,07$)	41,27 ($\pm 10,13$)	$p=0,756$
Reichweite	(22-62)	(29-58)	
Anzahl EK's			
M (SD)	7,2 ($\pm 4,83$)	7,33 ($\pm 6,49$)	$p=0,838$
Reichweite	(0-17)	(0-25)	
Anzahl FFP's			
M (SD)	23,66 ($\pm 9,91$)	23,667 ($\pm 13,53$)	$p=0,870$
Reichweite	(10-44)	(2-60)	
OP-Dauer (min)			
M (SD)	298,73 ($\pm 57,09$)	320,27 ($\pm 117,78$)	$p=0,713$
Reichweite	(219-428)	(195-690)	

(KIZ, WIZ, EK's, FFP's, OP-Dauer: Mann-Whitney U Test)

3.2.4 Postoperative Parameter

In der statistischen Auswertung der postoperativen Parameter zeigte sich kein Unterschied zwischen beiden Gruppen in der Länge des Aufenthalts auf der Intensivstation (ITS) der Organ-Empfänger ($p=0,156$), der ITS-Dauer der Organ-Spender ($p=0,624$) und der Hospitalisierungsdauer ($p=0,461$, Tab. 19).

Tabelle 19 Ergebnisse der postoperativen Parameter

Postoperative Variablen	ITBL-Gruppe	Kontrollgruppe	Signifikanz
ITS-Dauer Empfänger (in Tagen)			
M (SD)	17,54 (19,69)	8,87 (±6,63)	p=0,156
Reichweite	(4-72)	(3-30)	
ITS-Dauer Spender (in Tagen)			
M (SD)	4,6 (±3,87)	4,13 (±4,57)	p=0,624
Reichweite	(0-13)	(0-14)	
Hospitalisierungsdauer Empfänger (in Tagen)			
M (SD)	55,6 (±39,16)	48,00 (±52,55)	p=0,461
Reichweite	(18-151)	(18-50)	

(ITS-Dauer, Hospitalisierungsdauer: Whitney-Mann U Test)

3.2.5 Radiologische Darstellung der T-Drainage

Am fünften postoperativen Tag (POD) erfolgte standardisiert die Darstellung der Gallengänge mit Kontrastmittel (KM) über die T-Drainage (Tab. 20). Statistisch zeigten sich in der postoperativen Darstellung der T-Drainage keine Unterschiede zwischen der ITBL- und der Kontrollgruppe (p=0.429).

In der ITBL-Gruppe stellten sich die Gallengänge in der Cholangiographie über die T-Drainage am fünften postoperativen Tag bei elf von 15 Patienten unauffällig dar. Die intra- und extrahepatischen Gallengänge waren regelrecht kontrastiert und das Kontrastmittel passierte die Anastomose ohne Zeichen einer Leckage oder Stenose. Die T-Drainage konnte verschlossen und im Verlauf entfernt werden. Bei drei Patienten zeigte sich ein verzögerter KM-Abfluss ohne signifikante Stenosen der Gallengänge. In der T-Drainagen-Darstellung eines Patienten zeigte sich ein Paravasat im Bereich der Anastomose.

In der Kontrollgruppe stellten sich die Gallengänge in der Cholangiographie über die T-Drainage am fünften postoperativen Tag bei 12 Patienten unauffällig dar. Bei einem Patienten war intraoperativ auf die Einlage einer T-Drainage verzichtet worden. Bei

einem Patienten zeigte sich ein verzögerter KM-Abfluss ohne signifikante Stenosen der Gallengänge.

Tabelle 20 Ergebnisse der postoperativen T-Drainagen-Darstellung

Darstellung T-Drainage	ITBL-Gruppe (n=15)	Kontrollgruppe (n=15)	Signifikanz
5. POD			
Unauffällig	11	12	p=0,429
Verzögerter KM-Abfluss/ Anastomosenstenose	4	2	
Keine T-Drainage	0	1	

(T-Test)

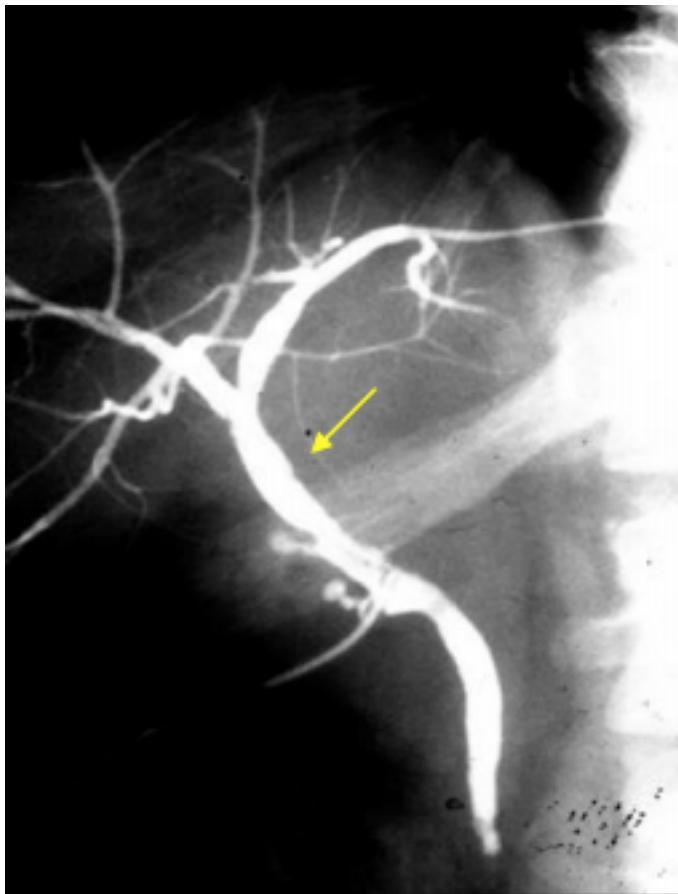


Abbildung 8 Unauffällige Darstellung einer Seit-zu-Seit Anastomose über die T-Drainage am fünften POD (Pfeil)

3.2.6 Laborchemische Parameter

Die Auswertung der laborchemischen Parameter GGT, AP, ASAT, ALAT erfolgte mittels einer Varianzanalyse (ANOVA) mit Messzeitwiederholung mit den Innersubjektfaktoren „Messzeitpunkt“ (an Tag 1-7, 14, 21, 28 postoperativ) und dem Zwischensubjektfaktor „Gruppe“ (ITBL-Gruppe, Kontrollgruppe) und den Laborparametern als abhängige Variablen.

Die statistische Auswertung der oben genannten Laborparameter werden graphisch (Abbildung 9-12) und tabellarisch dargestellt (Tabelle 21-24).

Im postoperativen Verlauf der GGT zeigte sich ein signifikanter Unterschied am 21. postoperativen Tag ($p=0,006$). Die weiteren Messzeitpunkte der GGT zeigten zwischen den Gruppen keinen signifikanten Unterschied.

In der varianzanalytischen Auswertung der AP waren die Werte der ITBL-Gruppe im Vergleich zu Kontrollgruppe an den Tag 3 ($p=0,04$), 4 ($p=0,039$), 5 ($p=0,051$) und 21 ($p=0,047$) postoperativ signifikant höher.

Der postoperative Verlauf der Transaminasen ASAT und ALAT zeigte in der statistischen Auswertung keinen Unterschied zwischen der ITBL- und der Kontrollgruppe.

Tabelle 21 Postoperativer Verlauf GGT

GGT	ITBL-Gruppe	Kontrollgruppe	Signifikanz
	M (±SE)	M (±SE)	
Tag 0, präoperativ	336,85 (±168,62)	174,40 (±23,50)	0,329
Tag 1	115,33 (±23,50)	98,98 (±16,64)	0,570
Tag 2	106,00 (±19,30)	104,13 (±19,02)	0,946
Tag 3	127,60 (±22,10)	124,60 (±21,50)	0,923
Tag 4	165,57 (±35,19)	144,60 (±18,73)	0,596
Tag 5	227,00 (±44,33)	170,80 (±26,83)	0,287
Tag 6	235,13 (±43,43)	235,46 (±50,64)	0,996
Tag 7	241,27 (±41,43)	294,80 (±55,26)	0,445
Tag 14	411,07 (±62,64)	434,50 (±99,85)	0,842
Tag 21	513,15 (±71,47)	243,93 (±54,02)	0,006
Tag 28	465,00 (±69,58)	298,60 (±76,60)	0,123

(ANOVA)

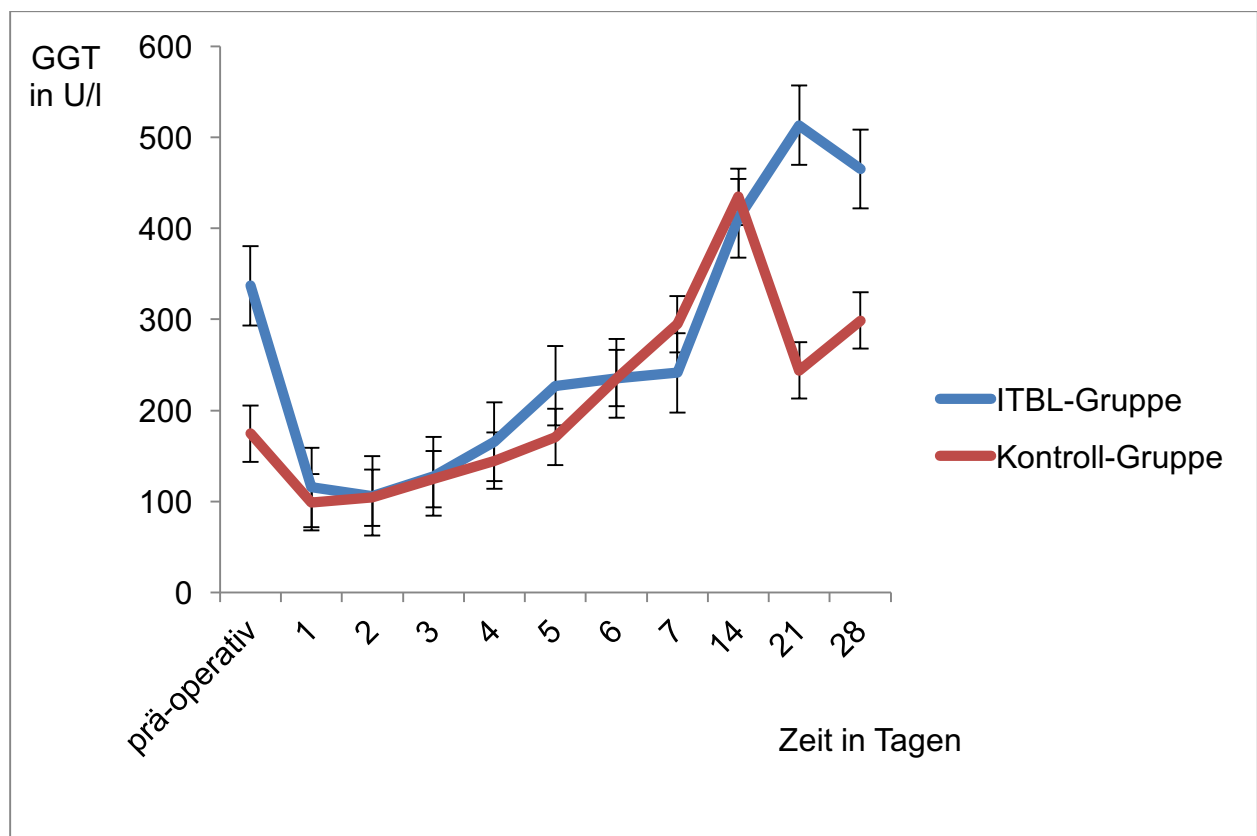


Abbildung 9 Postoperativer Verlauf GGT

Tabelle 22 Postoperativer Verlauf AP

AP	ITBL-Gruppe	Kontrollgruppe	Signifikanz
	M (±SE)	M (±SE)	
Tag 0, präoperativ	261,08 (±78,40)	164,87 (±37,79)	0,259
Tag 1	120,20 (±23,764)	81,47 (±8,36)	0,135
Tag 2	117,20 (±20,71)	79,80 (±7,69)	0,101
Tag 3	131,53 (±22,49)	81,40 (±6,18)	0,040
Tag 4	148,67 (±29,19)	83,60 (±6,91)	0,039
Tag 5	154,87 (±29,33)	92,53 (±8,72)	0,051
Tag 6	143,27 (±24,50)	120,46 (±21,38)	0,496
Tag 7	143,07 (±21,58)	139,93 (±28,28)	0,930
Tag 14	253,57 (±56,60)	233,46 (±60,27)	0,810
Tag 21	341,75 (±58,56)	192,14 (±43,06)	0,047
Tag 28	402,45 (±88,49)	249,90 (±48,96)	0,137

(ANOVA)

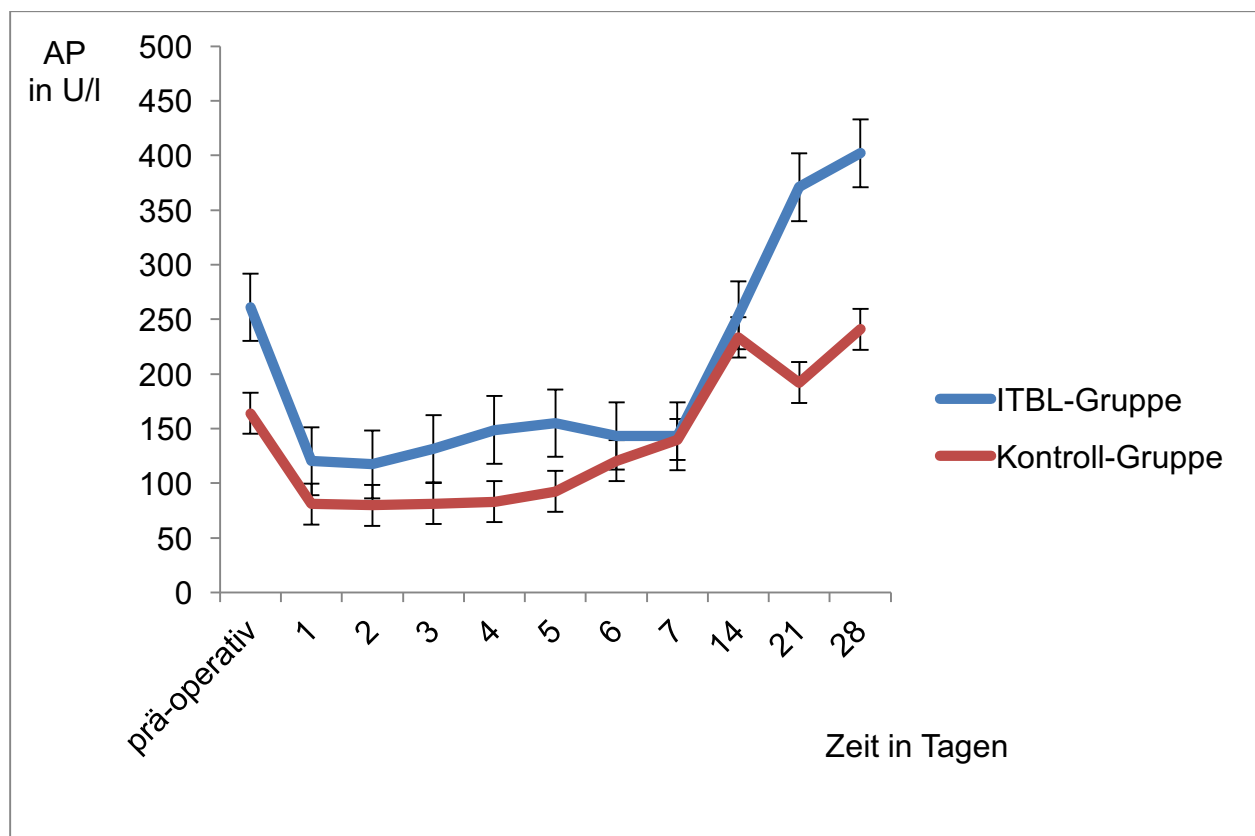


Abbildung 10 Postoperativer Verlauf AP

Tabelle 23 Postoperativer Verlauf ASAT

ASAT	ITBL-Gruppe	Kontrollgruppe	Signifikanz
	M (±SE)	M (±SE)	
Tag 0, Präoperativ	320,57 (±147,68)	295,33 (±232,32)	0,929
Tag 1	1335,73 (±411,33)	1216,60 (±226,86)	0,802
Tag 2	928,53 (±246,19)	896,20 (±216,54)	0,922
Tag 3	725,33 (±341,68)	482,27 (±166,06)	0,527
Tag 4	394,87 (±226,76)	191,60 (±60,75)	0,394
Tag 5	149,87 (±62,17)	93,33 (±19,04)	0,392
Tag 6	155,87 (±83,75)	74,77 (±12,62)	0,381
Tag 7	80,47 (±29,93)	83,20 (±28,73)	0,948
Tag 14	64,40 (±13,33)	94,21 (±49,75)	0,556
Tag 21	72,85 (±15,70)	43,50 (±10,68)	0,130
Tag 28	51,55 (±9,25)	252,70 (±206,32)	0,319

(ANOVA)

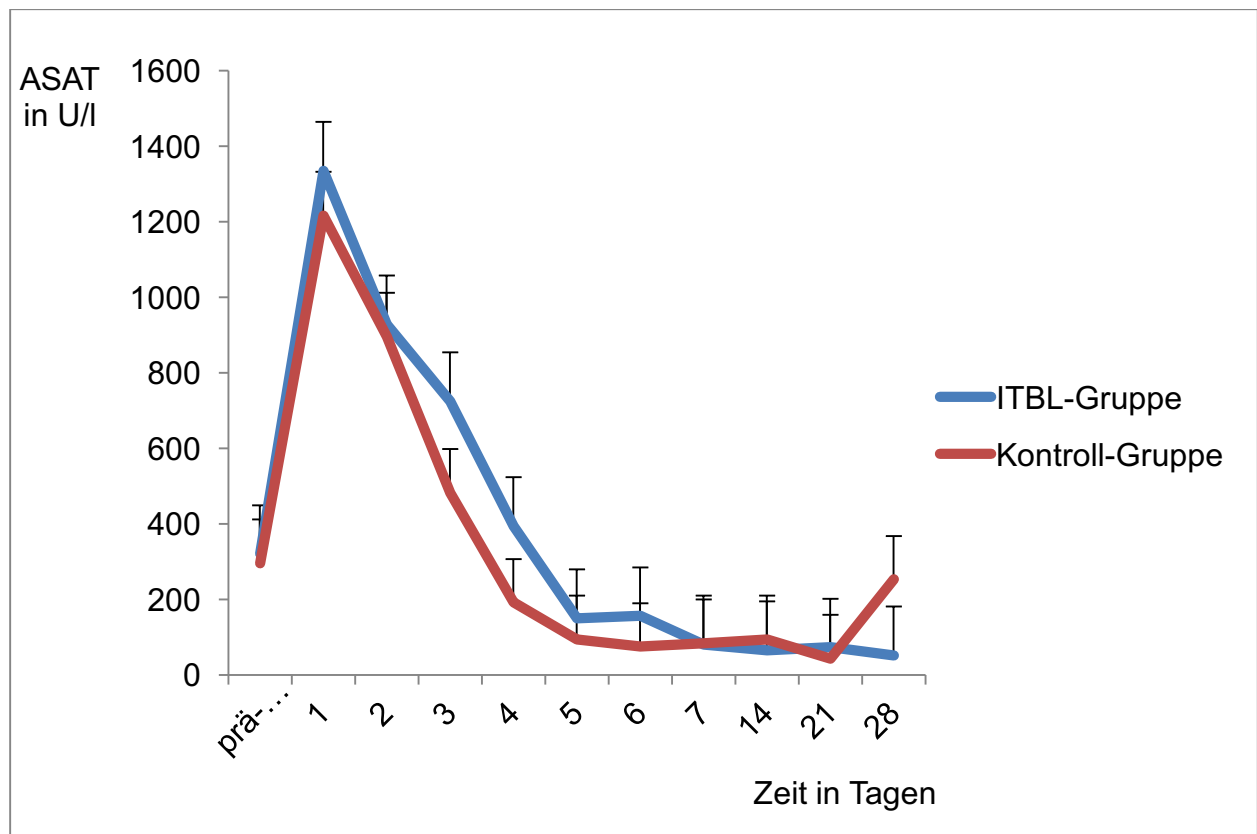


Abbildung 11 Postoperativer Verlauf ASAT

Tabelle 24 Postoperativer Verlauf ALAT

ALAT	ITBL-Gruppe	Kontrollgruppe	Signifikanz
	M (±SE)	M (±SE)	
Tag 0, Präoperativ	200,93 (±116,53)	172,33 (±132,13)	0,873
Tag 1	695,67 (±143,97)	779,00 (±194,36)	0,733
Tag 2	862,67 (±145,70)	972,53 (±283,99)	0,733
Tag 3	854,07 (±210,63)	822,53 (±256,22)	0,925
Tag 4	634,93 (±147,79)	512,47 (±161,16)	0,611
Tag 5	436,00 (±104,59)	326,80 (±99,80)	0,456
Tag 6	354,00 (±83,07)	252,77 (±69,29)	0,367
Tag 7	243,73 (±52,70)	208,13 (±45,74)	0,614
Tag 14	148,50 (±53,01)	157,14 (±59,40)	0,914
Tag 21	120,62 (±25,51)	76,07 (±20,28)	0,181
Tag 28	105,73 (±28,02)	124,00 (±57,85)	0,773

(ANOVA)

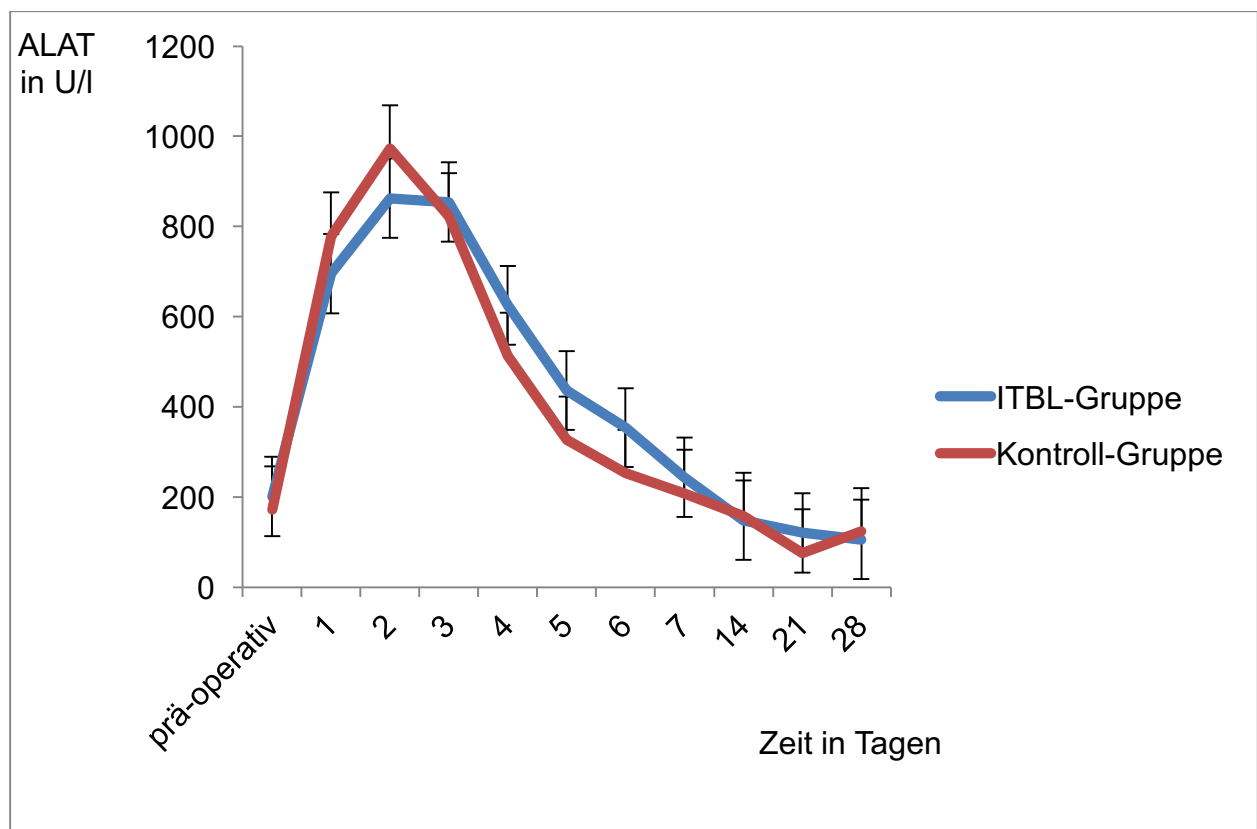


Abbildung 12 Postoperativer Verlauf ALAT

3.3 Ergebnisse der HLA-Typisierung

Im Folgenden werden die Ergebnisse des präoperativen HLA-Status sowie der de novo DSA- und NDSA-Status tabellarisch dargestellt (Tab. 25 – 27).

3.3.1 Präoperativer HLA-Status

In der ITBL-Gruppe wies ein Patient präformierte HLA vor der LTX auf. In der Kontrollgruppe waren zum Zeitpunkt der LTX drei Patienten mit präformierten HLA bekannt.

Die Ergebnisse der statistischen Auswertung mit dem exakten Test nach Fisher zeigten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Existenz präformierter HLA ($p=0,224$) der Klasse I ($p=0,224$) oder Klasse II ($p=1,000$) vor LTX zwischen beiden Gruppe (Tab. 25).

Tabelle 25 Übersicht zum Status präformierter HLA vor LTX

	ITBL-Gruppe	Kontrollgruppe	
	Anzahl (n)	Anzahl (n)	Signifikanz
präformierte HLA	0	3	0,224
präformierte HLA Klasse I	0	3	0,224
präformierte HLA Klasse II	0	1	1,000

(Exakter Test nach Fisher)

3.3.2 DSA-Status

Die statistische Auswertung zeigte signifikante Unterschiede in der Präsenz von DSA zwischen der ITBL-Gruppe und der Kontrollgruppe (Tab. 26).

In der ITBL-Gruppe ließ sich ein signifikant höherer Anteil von de novo entstandenen DSA nach LTX nachweisen ($p=0,003$). Insgesamt wiesen 46,7% der Patienten der

ITBL-Gruppe im postoperativen Verlauf de novo DSA auf. In der Kontrollgruppe wurden keine DSA detektiert.

In der ITBL-Gruppe zeigte sich ein signifikant höherer Anteil an DSA der Klasse I ($p=0,021$). Fünf Patienten der ITBL-Gruppe wiesen postoperativ de novo DSA der Klasse I auf, in der Kontrollgruppe wurden keine DSA gefunden.

Drei Patienten der ITBL-Gruppe wiesen postoperativ de novo DSA der Klasse II auf, in der Kontrollgruppe entwickelte keiner der Patienten im Verlauf de novo DSA der Klasse II. Im exakten Test nach Fisher war der Unterschied nicht signifikant ($p=0,112$).

Tabelle 26 Übersicht zum de novo DSA-Status

	ITBL-Gruppe	Kontrollgruppe	
	Anzahl (n=15)	Anzahl (n=15)	Signifikanz
DSA	7	0	0,003
DSA-Klasse I	5	0	0,021
DSA-Klasse II	3	0	0,112

(Exakter Test nach Fisher)

3.3.3 NDSA-Status

Die Ergebnisse der statistischen Auswertung zeigten signifikante Unterschiede in der Präsenz von NDSA im Vergleich der Gruppen (Tab. 27).

Insgesamt 6,7% der Patienten der ITBL-Gruppe wiesen de novo NDSA auf, in der Kontrollgruppe entwickelten 46,7% der Patienten postoperativ NDSA.

In der Kontrollgruppe zeigte sich signifikant höhere de novo NDSA im postoperativen Verlauf als in der ITBL-Gruppe ($p=0,035$).

Tabelle 27 Übersicht zum de novo NDSA-Status

	ITBL-Gruppe	Kontrollgruppe	
	Anzahl (n=15)	Anzahl (n=15)	Signifikanz
NDSA	1	7	0,035

(Exakter Test nach Fisher)

3.4 Diagnosezeitpunkt ITBL

Im Folgenden werden die Diagnosezeitpunkte der Patienten der ITBL-Gruppe tabellarisch und in einer Kaplan-Meier-Kurve dargestellt. Die Diagnose der ITBL erfolgte postoperativ in der ITBL-Gruppe am 235. Tag (Tabelle 28 und Abbildung 13).

Tabelle 28 Diagnosezeitpunkt der ITBL postoperativ

ITBL-Diagnose postoperativ	(in Tagen)
M (SD)	235,5 (\pm 103,4)
Reichweite	(30-648)

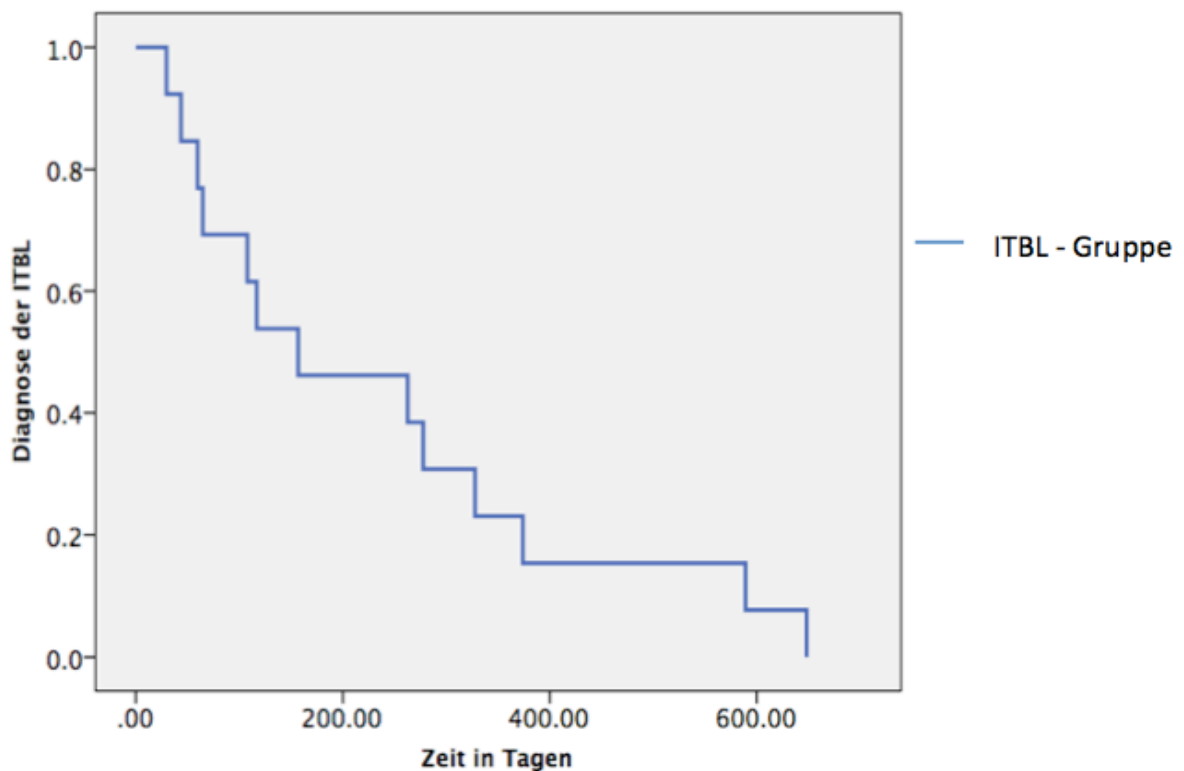


Abbildung 13 Kaplan-Meier-Kurve zum Diagnosezeitpunkt der ITBL-Gruppe im postoperativen Verlauf

3.5 Interventioneller Therapieverlauf

Im postoperativen Therapieverlauf zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen hinsichtlich durchgeführter Interventionen mittels ERC ($p=0,001$) und Stents ($p=0,021$). 86,7% der Patienten der ITBL-Gruppe erhielten eine ERC im Rahmen diagnostischer oder therapeutischer Maßnahmen. In der Kontrollgruppe erfolgte bei 20% der Patienten eine ERC. In der ITBL-Gruppe erhielten 60% der Patienten postoperativ Stents des Gallengangs, gegenüber 13,3% der Patienten in der Kontrollgruppe (Tab. 29).

In der ITBL-Gruppe war der Anteil durchgeführter ERC- und Stentings signifikant höher als in der Kontrollgruppe ($p=0,001$).

Im Gruppenvergleich fand sich kein statistischer Unterschied für Papillotomien ($p=0,390$), Rejektionen ($p=0,466$), Stoßtherapien mit Urbason ($p=0,146$) und Plasmapherese ($p=0,483$).

Tabelle 29 Therapieverlauf nach LTX

	ITBL-Gruppe		Kontrollgruppe		Signifikanz
	Anzahl (n=15)	Anteil (%)	Anzahl (n=15)	Anteil (%)	
ERC	13	86,67	3	20,0	0,001
Stent	9	60,0	2	13,33	0,021
Papillotomie	5	33,33	2	13,33	0,390
Rejektion	6	40,0	9	60,0	0,466
Urbasonstoßtherapie	5	33,33	10	66,67	0,146
Plasmapherese	0	0,0	2	13,33	0,483

(Exakter Test nach Fisher)

3.6 Postoperatives Transplantat-Überleben

Das Transplantat-Überleben wurde anhand der Kaplan Meier Überlebenskurve berechnet. Die kumulative 3-Jahres-Überlebensrate (JÜR) des Leber-Transplantats betrug 72,7% in der ITBL-Gruppe vs. 73,3% in der Kontrollgruppe. Zwischen den Gruppen zeigte sich kein signifikanter Unterschied ($p=0,999$, Abb. 14, Tab. 30).

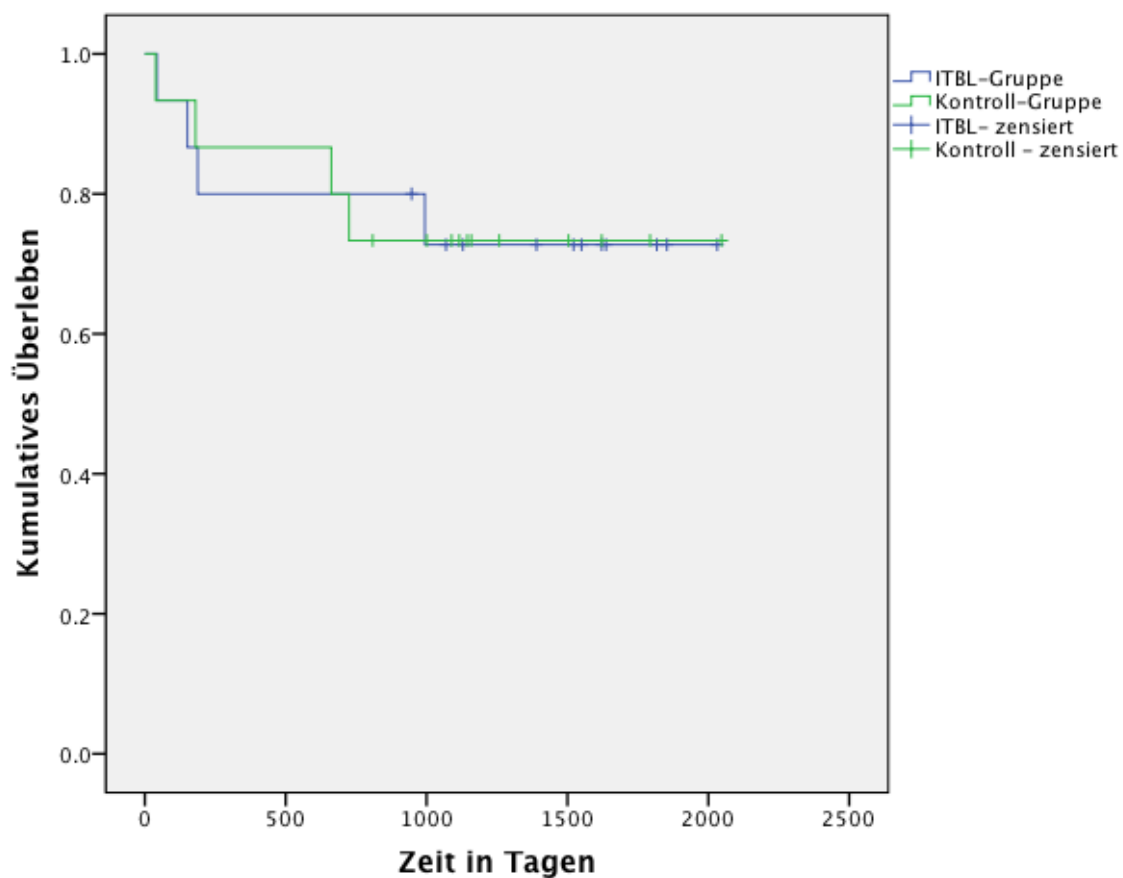


Abbildung 14 Kaplan-Meier Überlebenskurve der Transplantate nach LTX

Tabelle 30 Transplantat-Überleben nach LTX

	50 Tage	150 Tage	250 Tage	750 Tage	1000 Tage
ITBL-Gruppe	93,3%	86,7%	80,0%	80,0%	72,7%
Kontrollgruppe	93,3%	86,7%	86,7%	73,3%	73,3%

(Kaplan Meier Überlebenskurve; Log Rank $P=0,999$)

3.7 Postoperatives Patienten-Überleben

Die kumulative Überlebensrate der Patientengruppen wurde anhand der Kaplan Meier Überlebenskurve berechnet. Die 3-JÜR der nach LTX betrug 72,7% in der ITBL-Gruppe vs. 73,3% in der Kontrollgruppe. Zwischen den Gruppen zeigte sich kein signifikanter Unterschied ($p=0,999$, Abb. 15, Tab. 31).

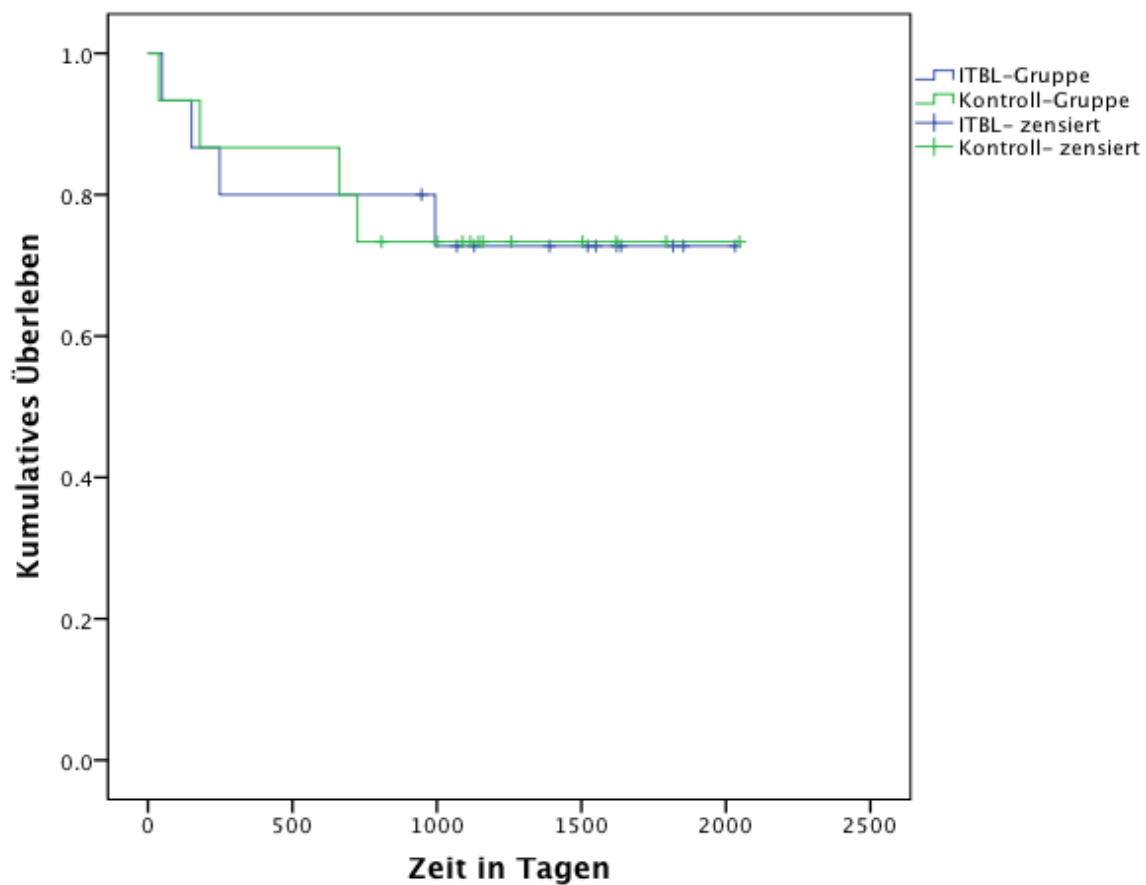


Abbildung 15 Kaplan-Meier Überlebenskurve der Patienten nach LTX

Tabelle 31 Patienten-Überleben nach LTX

	50 Tage	150 Tage	250 Tage	750 Tage	1000 Tage
ITBL-Gruppe	93,3	86,7	80,0	80,0	72,7
Kontrollgruppe	93,3	86,7	86,7	73,3	73,3

(Kaplan Meyer Überlebenskurve; Log Rank $P=0,999$)

3.8 Einfluss von Kovariaten auf das Auftreten von DSA

Im Folgenden wird der Zusammenhang zwischen der Kovariante „Rejektion“ und dem Auftreten von DSA dargestellt (Tab. 32).

Tabelle 32 Zusammenhang von Rejektion und HLA, DSA und NDSA

	Rejektion	keine Rejektion	
	Anzahl	Anzahl	Signifikanz
DSA de novo (n=7/30)	4	3	1,000
DSA Klasse I de novo (n=5/30)	3	2	1,000
DSA Klasse II de novo (n=3/30)	2	1	1,000
NDSA de novo (n=8/30)	6	2	0,217
HLA präoperativ (n=3/30)	2	1	1,000

(Exakter Test nach Fisher)

Es konnten keine statistisch signifikanten Zusammenhänge von Rejektionen und dem de novo Auftreten von DSA nachgewiesen werden ($p=1,000$). Ebenso wenig konnten Unterschiede zwischen dem Auftreten von NDSA ($p=0,217$) oder präoperativ existierenden HLA ($p=1,000$) und dem Auftreten von Rejektionen festgestellt werden.

3.9 Ergebnisse der Fragestellungen

Im Folgenden werden die Ergebnisse entsprechend der zu überprüfenden Hypothesen dargestellt.

3.9.1 Überprüfung der Primärhypothese

- I. Patienten mit einer ITBL-Diagnose in unserem Patientenkollektiv weisen im Vergleich zu einer Kontrollgruppe häufiger DSA auf.

Die Überprüfung der Primärhypothese erfolgte durch einen exakten Test nach Fischer. Das Signifikanzniveau wurde hierbei einseitig auf 0,05 ausgewiesen. Es zeigten sich signifikante Unterschiede in der de novo Präsenz von DSA nach der LTX zwischen der ITBL-Gruppe und der Kontrollgruppe. In der ITBL-Gruppe lässt sich ein signifikant höherer Anteil an DSA nachweisen ($p=0,003$).

Die Primärhypothese dieser Arbeit konnte somit bestätigt werden.

3.9.2 Überprüfung der Sekundärhypothesen

- I. Es zeigen sich keine Unterschiede zwischen Patienten mit einer ITBL-Diagnose und einer Kontrollgruppe bezogen auf demographischen, immunologischen, und operativen Variablen.
- II. Die laborchemischen Parameter ASAT, ALAT, GGT und AP sind bei Patienten mit einer ITBL-Diagnose postoperativ höher als in der Kontrollgruppe.

3.9.2.1 Sekundärhypothese I

Die Auswertung der Sekundärhypothese H1 erfolgte anhand der Rohdaten für Alter, MELD-Score, CMV-Infektionen, ITS-Dauer, Hospitalisierungsdauer, kalte und warme Ischämie, EK-intraoperativ, FFP-intraoperativ und die OP-Dauer. Diese Parameter wurden mit Whitney-Mann-U-Tests, Chi-Quadrat-Tests und T-Tests bei unabhängigen Stichproben und auf einem Signifikanzniveau von 0,05 überprüft.

Die Ergebnisse der Analysen zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen der ITBL- und der Kontrollgruppe für die KIZ oder WIZ.

Die statistischen Auswertungen zeigten keinen Unterschied in der Anzahl der intraoperativ verwendeten FFP und EK's zwischen den beiden Gruppen. Auch die Operationsdauer unterschied sich innerhalb der beiden Gruppen nicht signifikant. Die Perfusionslösung wurde mit einem exakten Test nach Fischer ausgewertet.

Für keinen der oben genannten Parameter ließen sich in der Auswertung statistisch signifikante Unterschiede zwischen der ITBL- und der Kontrollgruppe feststellen.

Die Sekundärhypothese I muss somit zugunsten der Nullhypothese abgelehnt werden.

3.9.2.2 Sekundärhypothese II

Die Auswertung der laborchemischen Parameter GGT, AP, ALAT und ASAT erfolgte durch eine ein-faktorielle Varianzanalyse mit Messzeitwiederholung durch eine ANOVA mit dem Innersubjektfaktor „Messzeitpunkt“ (an den Tagen 1-7, 14, 21, 28 postoperativ) und dem Zwischensubjektfaktor „Gruppe“ (ITBL-Gruppe, Kontrollgruppe).

Es zeigten sich signifikant höhere Werte in der ITBL-Gruppe der AP an Tag 3 ($p=0,040$), Tag 4 ($p=0,039$), Tag 5 ($p=0,051$) und Tag 21 ($p=0,047$) und der GGT an Tag 21 postoperativ. ALAT und ASAT sowie die weiteren Messzeitpunkte der GGT und AP zeigten sich keine signifikanten Unterschiede.

Die Sekundärhypothese II kann bezogen auf die AP (Tag 3, 4, 5, 21) bestätigt werden. Für ALAT, ASAT und GGT muss die Sekundärhypothese II zugunsten der Nullhypothese abgelehnt werden.

4. Diskussion

Biliäre Komplikationen nach LTX treten mit einer konstanten Inzidenz von 10-15% nach LTX auf¹¹. Die ITBL wird dabei postoperativ zu den Hauptkomplikationen gezählt und geht mit einer Morbiditäts- und Mortalitätsrate zwischen 15% und 38% einher^{53,54}.

Die von uns durchgeführte Datenanalyse zeigt, dass die ITBL-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant häufiger und bereits vor der Diagnosestellung der ITBL de novo DSA aufweisen. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Ausbildung von DSA mit dem Auftreten von ITBL assoziiert ist. Insgesamt bestätigt die Analyse demnach die Primärhypothese der vorliegenden Arbeit.

In unserer Studie zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der ITBL- und der Kontrollgruppe bezüglich ihres präoperativen HLA-Status.

Es zeigen sich Unterschiede zwischen den Gruppen bezogen auf die Neuf ormation von NDSA. In der Kontrollgruppe war der Anteil von de novo NDSA im Vergleich mit der ITBL-Gruppe signifikant höher. Unsere Ergebnisse lassen darauf schließen, dass Patienten ohne ITBL eher NDSA ausbilden, während bei Patienten mit ITBL eher DSA auftreten.

Zur verschiedenen postoperativen Messzeitpunkten war die AP bei der ITBL-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe asymptomatisch erhöht und könnte in Kombination mit de novo aufgetretenen DSA einen Marker zur frühzeitigen Erkennung von ITBL darstellen.

In Zusammenschau mit den vorliegenden Ergebnissen dieser Arbeit liegt der Fokus der Diskussion insbesondere auf dem Krankheitsverlauf bei neu aufgetretenen DSA.

Im Folgenden werden die untersuchten Aspekte und Ergebnisse der Arbeit im Kontext der aktuellen Literatur diskutiert. Ferner wird auf methodische Grenzen eingegangen und ein Ausblick geliefert.

4.1 HLA-, DSA- und NDSA-Status

4.1.1 Präoperativer HLA-Status

HLA der Klasse I werden auf allen Zellen in der Leber und in hoher Densität auf Endothelzellen exprimiert. HLA der Klasse II sind ausschließlich auf dendritischen Zellen, teilweise auf Makrophagen und zu einem geringen Anteil auf portalem Mikrovaskular der Leber zu finden. Sie werden bei Entzündungen, Infektionen und ischämischen Verletzungen hochreguliert. Dies geschieht vor Allem in sinusoidalem Zentralvenenendothel, in Gallengängen und in Hepatozyten⁵⁵.

Voruntersuchungen zu der Fragestellung, ob präoperativ vorhandene HLA zu postoperativen Komplikationen oder einem reduzierten Patienten- und Transplantatüberleben führen, zeigen eine heterogene Datenlagen. Unsere Studie legt nahe, dass Patienten mit einem präoperativ positiven HLA-Status kein erhöhtes Risiko für die Ausbildung einer ITBL aufweisen. Dieses Ergebnis steht im Widerspruch mit Untersuchungen, die einen signifikant-negativen Effekt von präformierten HLA gefunden haben⁴¹.

Musat et al. postulierten, dass präformierte DSA vor LTX mit einem höheren Risiko für akute zelluläre Rejektion assoziiert waren⁵⁶. Taner et al. zeigten, dass nach LTX präformierte DSA bei 85% der Patienten verschwanden und nur persistierende DSA für eine Antikörper-vermittelte Rejektion verantwortlich waren²³. Auch Kozlowski et al. berichteten, dass positive T- und B-Zell Crossmatches bei einem 79% der Patienten nach LTX negativ wurden²¹. O'Leary et al. beschrieben, dass präformierte DSA der Klasse I und II unabhängige Risikofaktoren für Transplantatverlust und Tod des Patienten waren⁵⁵.

Auf der anderen Seite stehen unsere Ergebnisse im Einklang mit Berichten, die keine negative Wirkung von präformierten HLA auf das Transplantatüberleben nachweisen^{39,40,57}.

Fontana et al. beschrieben dabei, dass sich insbesondere die Prävalenz biliärer Komplikationen bei Patienten mit präformierten HLA nicht von den Patienten ohne HLA unterscheiden²⁴.

In unserer Studie wies ein Patient der ITBL-Gruppe präoperativ HLA auf. In der Kontrollgruppe fanden sich drei Patienten mit vorgeformten HLA. In der statistischen Auswertung zeigt sich keine Korrelation zwischen ITBL und präformierten HLA. Unsere Analyse zeigt die Ausbildung einer ITBL unabhängig von präoperativ bestehenden HLA und deuten darauf hin, dass nicht der präoperative HLA-Status, sondern die postoperative Ausbildung von de novo DSA eine Rolle bei der Entwicklung einer ITBL spielt.

4.1.2 DSA-Status

Verschiedene Studien zeigten, dass DSA bereits vor einem Funktionsverlust des Transplantats oder einem Transplantatverlust nachgewiesen werden können³⁶⁻³⁸. Einige Studien beschreiben außerdem eine Assoziation zwischen DSA und abnehmender Transplantatfunktion nach LTX³⁹.

In einer Studie von Del Bello et al. entwickelten 9% der Patienten nach LTX de novo DSA⁵⁸. Fontana et al. untersuchten 95 lebertransplantierte Patienten auf DSA. Nur 4,2% der untersuchten Patienten wiesen DSA auf. Patienten, die in der Studie de novo DSA entwickelt hatten, bildeten postoperativ alle biliäre Komplikationen aus²⁴.

In unserer Studie wiesen 46,7% der ITBL-Patienten nach LTX de novo DSA auf.

Die HLA-Testungen erfolgten sowohl in unserer Studie als auch in den oben genannten Studien mittels Luminex-Assays. Die ITBL-Gruppe zeigt im Vergleich zur den untersuchten Patientenkohorten von Del Bello et al. und Fontana et al. eine mehr als fünf- bis zehnfach erhöhte postoperative Neu-Inzidenz an DSA. Das vermehrte Auftreten von DSA und ITBL lässt insbesondere im Vergleich mit den weitaus geringeren DSA-Indidenzen unserer Kontrollgruppe und der untersuchten Kohorte von Del Bello et al. und Fontana et al. auf eine besondere Prädisposition der DSA-positiven Patienten für ITBL schließen.

Die Ergebnisse von Fontana et al. decken sich mit unseren Ergebnissen, die ebenfalls ein erhöhtes Vorkommen biliärer Komplikationen im Sinne einer ITBL bei DSA-positiven Patienten zeigen.

O'Leary et al zeigten, dass präformierte DSA der Klasse I nur in 5% aller Patienten nach LTX persistierten und nicht mit Rejektionen assoziiert waren⁵⁵. DSA der Klasse II persistierten hingegen in 23% aller Patienten nach LTX und waren ein unabhängiger Risikofaktor für eine frühe Rejektion des Transplantats⁵⁵. In unserer Studie konnte DSA-Positivität nicht mit einem erhöhten Risiko für Rejektionen in Verbindung gebracht werden.

Goh et al. beschrieben einen schädigenden Effekt von DSA der Klasse I und eine kürzere Überlebensrate des Transplantats bei einem Persistieren von DSA³³. In unserer Studie zeigen sich in den drei Jahres-Überlebensraten der Patienten und deren Transplantate sich keine Unterschiede zwischen beiden Gruppen.

Weiterhin zeigten Studien in erwachsenen und pädiatrischen Patienten nach LTX eine Assoziation zwischen DSA und einem höheren Risiko für Fibrose und Zirrhose der Lebertransplantate^{56,58}. Zwei weitere pädiatrische Studien von Miyagawa-Hayashino et al. und Yamada et al. beschrieben eine Assoziation zwischen DSA und der Ausbildung einer Fibrose des Transplantats^{59,60}. Miyagawa-Hayashino et al. evaluierten dabei 79 pädiatrische Patienten nach LTX mit protokollierten Leberbiopsien. DSA-positive Patienten zeigten 5 Jahre nach der LTX eine höhere Inzidenz von Leberfibrosen 3. und 4. Grades⁵⁹. Yamada et al. vermuteten in einer immunologischen Studie, dass DSA ebenfalls einen Einfluss auf die Ausbildung perizentraler Fibrosen des Transplantats habe⁶⁰. Biliäre Strikturen wurden häufiger bei Patienten festgestellt, welche positiv für DSA waren. Als ein unabhängiger Risikofaktor werden auch DSA der Klasse II beschrieben¹².

Ein immunologisches Erklärungsmodell für die schädigende Wirkung von DSA auf Lebertransplantate findet sich in der Betrachtung ihrer Wirkungsweise an den Hepatozyten und am Epithel der Gallengänge.

MHC-Moleküle der Klasse I und Klasse II werden auf hepatischen Sinusendothelzellen exprimiert. Hepatozyten und Gallenepithelzellen, welche circa 30% der nicht-parenchymalen Leberzellen darstellen, exprimieren ausschließlich MHC-Moleküle der Klasse I^{61,62}. Die Bindung von Antikörpern der Klasse I auf Hepatozyten und Gallenepithelzellen kann demzufolge eine direkte Schädigung des Transplantats verursachen. Kommt es zur einer Bindung von Antikörpern beider Klassen an hepatische Sinusendothelzellen, können vaskuläre Schäden verursacht werden^{61,62}. HLA können die Aktivierung intrazellulärer Signalkaskaden in Endothelzellen induzieren und insbesondere in Arterien eine Proliferation des Endothels, Fibroblasten und weichem Muskelgewebe begünstigen³⁵. Verglichen mit sinusoidalem Leberparenchym ist das Gallenepithel anfälliger und hat eine niedrigere Regenerationsfähigkeit⁶³. Immunkomplexe können inflammatorische und fibrotische Umbauprozesse in kleinen Gefäßen des Gallenbaums triggern, die zu ischämischen Schädigungen führen^{44,64}.

DSA der Klasse I werden konstitutiv auf allen Zellen der Leber exprimiert. Die Ausbildung von DSA der Klasse II ist hauptsächlich auf hämatolymphoide Leberzellen limitiert. Entzündungen, Infektionen oder ischämische Verletzungen können DSA der Klasse II in der Leber induzieren und zu einer Antikörper-vermittelten Schädigung des portalen mikrovaskulären Kapillarendothels führen⁶⁵. Das renale peritubuläre Kapillarbett ist um ein hundertfaches kleiner als das der Leber und die Konzentration von gebundenen Antikörpern innerhalb der Leber ist daher verdünnt. Trotz der Größe der Leber ist der Einfluss präformierter DSA spektral⁵⁵.

Das Mikrovaskular der Leber unterscheidet sich von dem anderer solider Organe durch den peribiliären Kapillarplexus. Es ist umgeben von Makrophagen, beziehungsweise Kupffer-Zellen, und Natural-Killer-(NK-)Zellen. Während der ersten Monate nach der Transplantation, kann es zu mikrovaskulären Schädigungen und Gallengangsschädigungen kommen^{41,66}.

Pathophysiologisch geht die ITBL mit einer Fibrotisierung der Gallengänge einher. Eine T-Zell-vermittelte Abstoßung führt zu mikrovaskulärer Endothel-Hypertrophie und Mikrovaskulitis, welche in einer Destruktion der Gallengänge resultieren kann. Diese wiederum führt zu Duktopenie in Verbindung mit Zerstörung des peribiliären Plexus und direkter biliärer Schädigung⁶⁷. In diesen vaskulären und zellulären Umbauprozessen

spielen DSA ebenfalls eine Rolle und könnten durch diesen pathophysiologischen Mechanismus ITBL begünstigen.

Unsere Ergebnisse zeigen in Zusammenschau mit der aktuellen Studienlage, dass de novo DSA durch die Induktion entzündlicher Prozesse und die Prädisposition zur Fibrosierung des Transplantats die Ausbildung biliärer Komplikationen im Sinne einer ITBL begünstigen können.

4.1.3 NDSA-Status

In der aktuellen Literatur finden sich lediglich wenige Studien, die auf den NDSA-Status von Patienten nach LTX eingehen. Eine Studie zur Korrelation von biliären Komplikationen nach LTX und HLA beschrieb eine NDSA-Indizienz von 24% bei Patienten nach LTX. Ein Zusammenhang zwischen NDSA und biliären Komplikationen ließ sich nicht feststellen. Lediglich die Patienten mit DSA hatten ein erhöhtes Risiko für biliäre Komplikationen²⁴.

In unserer Studie traten signifikant häufiger NDSA postoperativ in der Kontrollgruppe auf. Diese waren weder mit der Ausbildung von ITBL noch mit Rejektionen assoziiert. Postoperativ wiesen 46,7% der Patienten in der Kontrollgruppe NDSA auf. In der ITBL-Gruppe wurde bei einem Patienten de novo NDSA detektiert.

Die Ergebnisse des de novo NDSA-Status stützten die Annahme, dass NDSA nicht mit der Ausbildung von ITBL assoziiert sind, sondern ausschließlich donorspezifische Antikörperkomplexe in einem Zusammenhang mit dem Auftreten einer ITBL stehen.

4.2 Einfluss perioperativer Parameter

Abhängig von dem Zeitpunkt ihres Beginns können biliären Komplikationen nach LTX in frühe und späte Komplikationen unterteilt werden. Insgesamt zwei Drittel aller biliären Komplikationen manifestieren sich als frühe Komplikationen innerhalb der ersten drei Monate nach LTX¹¹. Diese können sich beispielsweise als Strikturen oder Insuffizienzen zeigen und sind größtenteils von technischer Natur⁶⁸. Gallenwegskomplikationen, die

mehrere Monate oder Jahre nach LTX auftreten, betreffen häufig die intra- oder extrahepatischen Gallenwege und stellen oftmals komplikationsreiche Spätkomplikationen nach Lebertransplantationen dar⁴³.

Während des Krankenhausaufenthaltes der Patienten erfolgt am Virchow-Klinikum der Charité standardisiert eine radiologische Darstellung der intraoperativ eingelegten T-Drainage, um Stenosen und Strikturen der Gallenwege und der Anastomose frühzeitig darzustellen¹¹. Die Darstellung der T-Drainage am fünften postoperativen Tag zeigte in dieser Studie keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Pascher et al. und Iacob et al. zufolge kommt es im Rahmen von biliären Komplikationen bei Patienten postoperativ zu Erhöhungen der Laborparameter GGT, AP, ALAT und ASAT^{11,12}. Diese Ergebnisse konnten bezogen auf die Erhöhung der AP in unserer Studie bestätigt werden. In der ITBL-Gruppe war die AP im Vergleich zu der Kontrollgruppe postoperativ zu verschiedenen Messzeitpunkten signifikant erhöht.

Die AP zeigt sich insbesondere bei Erkrankungen der Leber oder des Gallenwegssystems erhöht. Ein Zusammenhang als spezifischer Biomarker für ITBL ist in der Literatur bisher nicht beschrieben worden. Hilscher et al. beschrieben eine asymptomatische Erhöhung in Patienten mit bekannter PSC als negativ-prognostischen Marker für Langzeitüberleben und Verschlechterung der Grunderkrankung⁶⁹. In unserer Studie zeigte sich die AP in der ITBL-Gruppe bereits vor der Diagnosestellung der ITBL und noch während des initialen postoperativen stationären Aufenthalts im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht.

Die asymptomatische Erhöhung dieses Laborparameters, insbesondere in Kombination mit postoperativ de novo aufgetretenen DSA, stellt somit einen potentiellen Indikator für ein erhöhtes Risiko der Entwicklung einer ITBL dar.

Im Anbetracht der Schwere der Komplikation liegt die Vermutung nahe, dass die poststationäre Entwicklung der ITBL als Komplikation nach LTX sich ebenfalls in einem ähnlichen Verlauf der Dauer der Hospitalisierung der ITBL-Gruppe wider spiegeln könnte¹¹. In der Literatur zeigten sich in der Hospitalisierungsdauer allerdings keine Unterschiede zwischen ITBL- und Kontrollpatienten⁵. Auch in dieser Arbeit unterscheidet sich die postoperative Krankenhausaufenthaltsdauer hinsichtlich der postoperativen ITS- und Gesamthospitalisierungsdauer nicht. Eine Erklärung für könnte

der Zeitpunkt des Auftretens der ITBL darstellen. In unserer Studie erfolgte die Diagnosestellung der ITBL durchschnittlich nach 235,5 Tagen. Dieser Zeitpunkt liegt deutlich außerhalb der durchschnittlichen Hospitalisierungsdauer der Patienten und gibt Anhalt dafür, dass die ITBL als postoperative Komplikationen nicht im unmittelbaren stationären Aufenthalt nach LTX klinisch symptomatisch wird.

Der späte Zeitpunkt der Diagnosestellung, die frühe unauffällige Darstellung der T-Drainagen und der zunächst unkomplizierte postoperative Verlauf bestärken die Annahme, dass es sich bei der ITBL um eine Spätkomplikation der LTX handelt. Es zeigt die Wichtigkeit engmaschiger Kontrollen nach LTX, auch nach unauffälligem initialen postoperativen Verlauf.

Halme et al. zufolge geht eine CMV-Infektion des Donors mit einem höheren Risiko biliärer Komplikationen einher¹. In einer retrospektiven Studie von Heidenhain et al. konnte kein Zusammenhang eines CMV-Infektes des Spenders oder Empfängers und ITBL-Inzidenz gefunden werden⁵. Auch in dieser Studie wurde der Zusammenhang zwischen dem Auftreten der ITBL und CMV-Infektion betrachtet. Dabei konnte in der statistischen Auswertung kein Zusammenhang zwischen einer CMV-Infektion des Donors oder des Empfängers und einem erhöhten Risiko für ITBL aufgezeigt werden.

Verschiedene Autorengruppen vertreten den Standpunkt, die Entstehung der ITBL könne ebenfalls durch autoimmunologische Prädispositionen begünstigt werden^{9,43,44}. Die Diagnose wurde von Heidenhain et al. ausschließlich dann gestellt, wenn andere postoperative Komplikationen und PSC als primäre Grunderkrankung ausgeschlossen werden konnten. Guichelaar et al. beschrieben in ihrer Studie an über 700 Patienten ein erhöhtes Auftreten einer ITBL nach autoimmuner Hepatitis und arterieller Thrombose⁴³. Heidenhain et al. untersuchten die Diagnosen, welche zur LTX führten und beschrieben keine statistisch signifikanten Unterschiede von ITBL-Patienten im Vergleich zu einer Kontrollgruppe⁵. In dieser Studie zeigen sich im Überblick der Grunddiagnosen beider betrachteter Gruppen keine Unterschiede in der Transplantationsindikation.

Zhu et al. beschrieben den MELD-Score als Risikofaktor für eine erhöhte Mortalität nach Re-LTX auf Grund von ITBL⁷⁰. Heidenhain et al. hingegen fanden keine Assoziation des MELD-Score und der Inzidenz von ITBL⁵. Auch in unserer Studie

wurde der präoperative MELD-Score der Organempfänger ausgewertet. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden.

In der Literatur werden intraoperative Einflüsse wie die KIZ, die WIZ und die Wahl der Perfusionslösung als mögliche Einflussfaktoren für die Entstehung einer ITBL diskutiert.

Canelo et al. beschrieben das Auftreten einer ITBL ausschließlich nach Konservierung mit UW-Lösung⁵¹. Moench et al konnten in einer Studie mit 300 Patienten nach Lebertransplantation keine signifikanten Unterschiede in der Entstehung von ITBLs zwischen HTK und UW ausmachen⁴⁹. Heidenhain et al. fanden bei Transplantaten, die mit UW-Lösung konserviert wurden, eine höhere Inzidenz von ITBL und folgerten daraus, dass eine arterielle Druckperfusion mit HTK geeignet sei, um die Inzidenz von ITBL zu minimieren⁵. In unserer Studie wurden alle Organe der ITBL-Patienten mit HTK-Lösung konserviert. In der Kontrollgruppe wurden zwei Organe mit UW-Lösung konserviert. Es zeigt sich in dieser Studie kein signifikanter Unterschied zwischen der Verwendung von HTK- oder UW-Konservierungslösungen in Verbindung mit dem Auftreten einer ITBL. In unserer Studie trat eine ITBL ebenfalls bei Transplantaten auf, welche zuvor mit HTK-Lösung konserviert wurden.

Grundsätzlich wird versucht die warme Ischämie weitestgehend zu reduzieren, da deren Länge als Risikofaktor für die Transplantatfunktion angesehen wird⁷¹. Einige Studien beschreiben eine verlängerte KIZ als prädisponierenden Faktor für die Ausbildung einer ITBL^{8,43,44}. Sanchez-Urdazpal berichteten von einer ITBL-Inzidenz von 2% bei Lebern mit einer KIZ von unter 11,5 Stunden. Bei einer KIZ zwischen 11,5 und 13 Stunden stieg die Inzidenz auf bis zu 35%. Bei Transplantaten mit einer KIZ von über 13 Stunden betrug die ITBL-Inzidenz bis zu 52%⁴⁵. Guichelaar et al. konnten die KIZ als Risikofaktor für die Ausbildung einer ITBL bestätigen⁴³. Dies deckt sich mit den Ansichten von Heidenhain et al., welche die KIZ als einen signifikant begünstigenden Faktor für eine ITBL nannten⁵. Im Bezug auf die KIZ zwischen den Gruppen zeigte sich in dieser Arbeit keine statistische Signifikanz. Die KIZ betrug in beiden Gruppe weniger als 10,5 Stunden.

4.3 Interventioneller Therapieverlauf und Langzeitüberleben

Interventionelle Therapieverfahren wie ERC und Stentings wurden in der ITBL-Gruppe signifikant häufiger durchgeführt als in der Kontrollgruppe. Auch in der Literatur wird die endoskopische Therapie in Form von ERC als Standardverfahren für Diagnose und Therapie der ITBL beschrieben^{9,14,43,45}. Stenting wird in der Literatur als Möglichkeit genannt, um eine Retransplantation zu vermeiden oder zeitlich zu verzögern^{7,72}.

Der Einfluss von ITBL auf das Langzeitüberleben wird im aktuellen Forschungsstand kontrovers diskutiert. Während in einigen Untersuchungen eine Reduktion der Überlebensraten beschrieben werden¹⁹, konnte in anderen Studien kein negativer Effekt der ITBL auf die Überlebensraten festgestellt werden⁷². Das betrachtete Überlebensintervall der Patienten und der Transplantate ist in dieser Studie auf drei Jahre begrenzt. In diesem Zeitraum konnte kein Zusammenhang mit einer Minderung des Langzeitüberlebens der ITBL-Patienten gezeigt werden. Dieses Phänomen kann zwei Ursachen zugrunde liegen: Zum Einen ist der von uns betrachtete postoperative Zeitraum auf drei Jahre postoperativ begrenzt. Unterschiede könnten gegebenenfalls erst über einen länger gewählten Zeitraum deutlich werden. Zum Anderen könnten demographisch unterschiedliche Behandlungsmöglichkeiten, die Gesamtkonstitution und Nebenerkrankungen von Patienten einen weitere individuelle Einflussfaktoren darstellen und als eine mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Überlebensraten in Studien herangezogen werden.

4.4 Kovariaten

Lange galten präoperative HLA und ein positiver Crossmatch-Test als Risikofaktor für eine akute Rejektion, während de novo DSA mit chronischen Rejektionen assoziiert wurden⁷³.

In dieser Studie fanden wir keinen signifikanten Zusammenhang in der Präsenz von DSA und dem Auftreten von Rejektionen. Es zeigten sich bei der Hälfte aller untersuchten Patienten eine oder mehrere Episoden von Rejektionen, welche entweder akut oder chronisch verliefen. Diese waren unabhängig von der Diagnose einer ITBL.

Auch in der Betrachtung von NDSA und Rejektionen und präoperativen HLA und Rejektionen zeigte sich keine statistische Signifikanz. Insgesamt ist in dieser Studie keine Assoziation zwischen HLA, DSA oder NDSA und der Kovariate „Rejektion“ nachzuweisen.

4.5 Limitationen der Studie

Im Folgenden werden die Limitationen der vorliegenden Studie beschrieben. Diese beziehen sich auf Gruppengröße und Fallzahlen, Screening-Methoden sowie HLA-Kontrollen und Nachkontrollen.

4.5.1 Gruppengröße und Fallzahlen

Es wurde in der vorliegenden Arbeit mit einer Stichprobe von n=30 gearbeitet. Die Fallzahl in der ITBL- und in der Kontrollgruppe betrug jeweils 15 Patienten.

Derartige Gruppengrößen können Ursache dafür sein, dass nur Unterschiede mit großen Effekten statistisch signifikant werden, während kleine und mittlere Effekte statistisch insignifikant bleiben. Dies kann dazu führen, dass vorhandene Differenzen lediglich aufgrund der kleinen Gruppengröße übersehen werden und die Forschungshypothese zugunsten der Nullhypothese fälschlicherweise abgelehnt wird⁷⁴.

4.5.2 Screening und Nachkontrollen

Das Screening der potentiellen ITBL-Patienten erfolgte manuell anhand aller Patientendaten des vorgegebenen Zeitraums mit den Datenprogrammen "SAP" und "Copro".

Ein Großteil der LTX-Patienten waren hinsichtlich der LTX-Nachsorge das Ambulanzzentrum der Charité Campus Virchow-Klinikum angebunden. Bei einigen Patienten erfolgte die Nachsorge über auswärtige chirurgische Ambulanzzentren. Gegebenenfalls konnte dadurch das Auftreten einer ITBL zu einem späteren Zeitpunkt nach Entlassung nicht erfasst werden.

4.5.3 HLA-Kontrollen

Die HLA-Abnahmen erfolgten an der Charité Campus Virchow-Klinikum im Rahmen des präoperativen Matchings und während des postoperativen stationären Aufenthaltes. Mit der Entlassung aus der stationären Behandlung erfolgte in der Regel keine weitere DSA-Spezifizierung, sodass in dieser Arbeit keine Aussage über den Langzeitverlauf von HLA und DSA getätigt werden kann.

4.6 Schlussfolgerung und Ausblick

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen eine Kausalität zwischen dem Auftreten einer ITBL und der Präsenz von de novo DSA, welche unabhängig von Rejektionen auftraten.

Es handelt sich hierbei um Aspekte, welche auf die Wichtigkeit der Diagnostik des DSA-Status nach LTX und regelmäßiger postoperativer Kontrollen hinweisen.

So könnten bei postoperativem Auftreten von DSA, insbesondere in Verbindung mit asymptomatischer Erhöhung der AP, engmaschigere Kontrollen erfolgen um biliäre Komplikationen wie die ITBL frühzeitig zu diagnostizieren und schnellstmöglich zu behandeln.

Ausgehend von den vorliegenden Ergebnissen unserer Studie und um die klinischen Auswirkungen akkurat definieren zu können, sind weitere große prospektive Studien über längere Zeiträume notwendig.

In Folgestudien sollte ein besonderes Augenmerk auf die Korrelation von DSA mit biliären Komplikationen wie ITBL gelegt werden. Der Fokus zukünftiger Studien könnte auf dem Verständnis über weitere Auswirkungen von DSA und deren Abhängigkeiten von Kofaktoren liegen, welche immunstimulierend und profibrogen wirken könnten.

Abkürzungsverzeichnis

AIH	Autoimmun-Hepatitis
ALAT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
CD	Cluster of Differentiation
CMV	Cytomegalievirus
CT	Computertomographie
DSA	Donorspezifische HLA-Antikörper
EK	Erythrozyten-Konzentrat
ERC	Endoskopisch retrograde Cholangiopankreatikographie
FFP	Fresh Frozen Plasma
GGT	Gamma-Glutanyltransferase
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HLA	Human Leukocyte Antigen-Antikörper
HTK	Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung
IBL	Ischemic Biliary Lesions
ICB	Intrazerebrale Blutung
INR	International Normalized Ratio
ITBL	Ischemic Type Biliary Lesions
ITS	Intensivstation
JÜR	Jahres-Überlebensrate
KIZ	Kalte Ischämiezeit
KM	Kontrastmittel
LCT-Test	Lymphozytotoxizitätstest
LTX	Lebertransplantation
M	Mittelwert
Max	Maximum
MELD	Model for Endstage Liver Disease
MHC	Hapthistokompatibilitätskomplex
Min	Minimum
MRCP	Magnetresonanz-Cholangiopankreatikographie

NDSA	Nicht-donorspezifische HLA-Antikörper
NK	Natural Killer
OLT	Orthotope Lebertransplantation
OP	Operation
POD	Postoperativer Tag
PSC	Primär sklerosierende Cholangitis
PTCD	Perkutane transhepatische Cholangiographie
SAB	Subarachnoidalblutung
SD	Standardabweichung
SE	Standardfehler
SHT	Schädel-Hirn-Trauma
UW	University of Wisconsin-Lösung
Vs.	Versus
WIZ	Warme Ischämiezeit

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Indikationen zur LTX	19
Tabelle 2 Evaluierungsuntersuchungen vor der LTX am Virchow-Klinikum Berlin	20
Tabelle 3 Kriterien für die Diagnosestellung einer ITBL	21
Tabelle 4 Einschlusskriterien der ITBL-Gruppe	22
Tabelle 5 Ein- und Ausschlusskriterien der Kontrollgruppe	23
Tabelle 6 Matching-Kriterien der Kontrollgruppe	23
Tabelle 7 Biographisch-soziologische Parameter der Empfänger	24
Tabelle 8 Biographisch-soziologische und infektiologische Parameter der Spender	24
Tabelle 9 Präoperative Parameter	25
Tabelle 10 Intraoperative Parameter	25
Tabelle 11 Postoperative Parameter	26
Tabelle 12 Auswertung des Reaktionsmusters in Bezug auf eine Antikörperspezifität	28
Tabelle 13 Ergebnisse der biographisch-soziologischen Parameter der Empfänger	31
Tabelle 14 Ergebnisse der biographisch-soziologischen Parameter der Spender	32
Tabelle 15 Übersicht der Todesursachen der Spender	32
Tabelle 16 Indikation zur LTX	33
Tabelle 17 Ergebnisse der präoperativen Parameter	34
Tabelle 18 Ergebnisse der intraoperativen Parameter	35
Tabelle 19 Ergebnisse der postoperativen Parameter	36
Tabelle 20 Ergebnisse der postoperativen T-Drainagen-Darstellung	37
Tabelle 21 Postoperativer Verlauf GGT	39
Tabelle 22 Postoperativer Verlauf AP	40
Tabelle 23 Postoperativer Verlauf ASAT	41
Tabelle 24 Postoperativer Verlauf ALAT	42
Tabelle 25 Übersicht zum Status präformierter HLA vor LTX	43
Tabelle 26 Übersicht zum de novo DSA-Status	44
Tabelle 27 Übersicht zum de novo NDSA-Status	44
Tabelle 28 Diagnosezeitpunkt der ITBL postoperativ	45
Tabelle 29 Therapieverlauf nach LTX	46
Tabelle 30 Transplantat-Überleben nach LTX	47
Tabelle 31 Patienten-Überleben nach LTX	48
Tabelle 32 Zusammenhang von Rejektion und HLA, DSA und NDSA	49

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 ITBL nach LTX in der Cholangiographie mit Strikturen und Dilatationen der Cholangien	12
Abbildung 2 Cholangiographie nach LTX mit normalem Gallenganssystem	12
Abbildung 3 PTCD-Anlage bei einem Patienten mit ITBL ohne T-Drainage mit stark erweiterten Cholangien, Kalibersprüngen und intraduktalen Sequestern des Spendergallenganges	13
Abbildung 4 MRCP bei ITBL nach LTX, hiläre Stenosen (Pfeilkopf) mit multiplen diffusen intrahepatischen Dilatationen. Fokale Stenosen mit peripheren intrahepatischen Gallengängen (Pfeile)	13
Abbildung 5 Sekundärstruktur von HLA-Klasse-I- und Klasse-II-Antigenen	15
Abbildung 6 Tertiärstruktur von HLA-Klasse-I-Antigenen am Beispiel von HLA-A2	15
Abbildung 7 Fallzahlverlauf der ITBL-Gruppe	22
Abbildung 8 Unauffällige T-Drainagen Darstellung 5. POD	37
Abbildung 9 Postoperativer Verlauf GGT	39
Abbildung 10 Postoperativer Verlauf AP	40
Abbildung 11 Postoperativer Verlauf ASAT	41
Abbildung 12 Postoperativer Verlauf ALAT	42
Abbildung 13 Kaplan-Meier-Kurve zum Diagnosezeitpunkt der ITBL-Gruppe im postoperativen Verlauf	45
Abbildung 14 Kaplan-Meier Überlebenskurve des Transplantat-Überlebens nach LTX	47
Abbildung 15 Kaplan-Meier Überlebenskurve des Patienten-Überlebens nach LTX	48

Literaturverzeichnis

1. Halme, L., Hockerstedt, K. & Lautenschlager, I. Cytomegalovirus infection and development of biliary complications after liver transplantation. *Transplantation* **75**, 1853–1858 (2003).
2. Sargent, S. & Wainwright, S. P. Quality of life following emergency liver transplantation for acute liver failure. *Nurs Crit Care* **11**, 168–176 (2006).
3. Langrehr, J. M. *et al.* [Etiologic factors and incidence of ischemic type biliary lesions (ITBL) after liver transplantation]. *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd* **115**, 1560–1562 (1998).
4. Nakamura, N. *et al.* Intrahepatic biliary strictures without hepatic artery thrombosis after liver transplantation: an analysis of 1,113 liver transplantations at a single center. *Transplantation* **79**, 427–432 (2005).
5. Heidenhain, C. *et al.* Incidence of and risk factors for ischemic-type biliary lesions following orthotopic liver transplantation. *Transpl. Int.* **23**, 14–22 (2010).
6. Frongillo, F. *et al.* Factors predicting ischemic-type biliary lesions (ITBLs) after liver transplantation. *Transplant. Proc.* **44**, 2002–2004 (2012).
7. Hintze, R. E. *et al.* Endoscopic management of biliary complications after orthotopic liver transplantation. *Hepatogastroenterology* **44**, 258–262 (1997).
8. Li, S. *et al.* Diffuse biliary tract injury after orthotopic liver transplantation. *Am. J. Surg.* **164**, 536–540 (1992).
9. Moench, C., Uhrig, A., Lohse, A. W. & Otto, G. CC chemokine receptor 5delta32 polymorphism—a risk factor for ischemic-type biliary lesions following orthotopic liver transplantation. *Liver Transpl.* **10**, 434–439 (2004).
10. Sanchez-Urdazpal, L. *et al.* Clinical outcome of ischemic-type biliary complications after liver transplantation. *Transplant. Proc.* **25**, 1107–1109 (1993).
11. Pascher, A., Gerlach, U. & Neuhaus, P. Bile duct strictures after liver transplantation. *Curr. Opin. Gastroenterol.* **30**, 320–325 (2014).
12. Iacob, S. *et al.* Genetic, immunological and clinical risk factors for biliary strictures following liver transplantation. *Liver Int.* **32**, 1253–1261 (2012).
13. Campbell, W. L., Sheng, R., Zajko, A. B., Abu-Elmagd, K. & Demetris, A. J. Intrahepatic biliary strictures after liver transplantation. *Radiology* **191**, 735–740 (1994).

14. Ward, J. *et al.* Bile duct strictures after hepatobiliary surgery: assessment with MR cholangiography. *Radiology* **231**, 101–108 (2004).
15. Boraschi, P. *et al.* Ischemic-type biliary lesions in liver transplant recipients: evaluation with magnetic resonance cholangiography. *Transplant. Proc.* **36**, 2744–2747 (2004).
16. Collettini, F. *et al.* Ischemic-type biliary lesions after orthotopic liver transplantation: diagnosis with magnetic resonance cholangiography. *Transplant. Proc.* **43**, 2660–2663 (2011).
17. Zajko, A. B. *et al.* Cholangiographic findings in hepatic artery occlusion after liver transplantation. *AJR Am J Roentgenol* **149**, 485–489 (1987).
18. Mogl, M. T. *et al.* Survival without biliary complications after liver transplant for primary sclerosing cholangitis. *Exp Clin Transplant* **11**, 510–521 (2013).
19. Buis, C. I., Hoekstra, H., Verdonk, R. C. & Porte, R. J. Causes and consequences of ischemic-type biliary lesions after liver transplantation. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* **13**, 517–524 (2006).
20. Girometti, R., Cereser, L., Como, G., Zuiani, C. & Bazzocchi, M. Biliary complications after orthotopic liver transplantation: MRCP findings. *Abdom Imaging* **33**, 542–554 (2008).
21. Kozlowski, T. *et al.* Liver allograft antibody-mediated rejection with demonstration of sinusoidal C4d staining and circulating donor-specific antibodies. *Liver Transpl.* **17**, 357–368 (2011).
22. Grabhorn, E. *et al.* Long-Term Clinical Relevance of De Novo Donor-Specific Antibodies After Pediatric Liver Transplantation. *Transplantation* (2015). doi:10.1097/TP.0000000000000638
23. Taner, T. *et al.* Prevalence, course and impact of HLA donor-specific antibodies in liver transplantation in the first year. *Am. J. Transplant.* **12**, 1504–1510 (2012).
24. Fontana, M., Moradpour, D., Aubert, V., Pantaleo, G. & Pascual, M. Prevalence of anti-HLA antibodies after liver transplantation. *Transpl. Int.* **23**, 858–859 (2010).
25. Wassmuth, R. Nachweis von HLA-Antigenen, HLA-Antikörpern und Histokompatibilität. *Transfusionsmedizin und Immunhämatologie* (2011).
26. Wassmuth, R. *et al.* HLA class II markers and clinical heterogeneity in Swedish patients with primary biliary cirrhosis. *Tissue Antigens* **59**, 381–387 (2002).
27. Opelz, G., Döhler, B. & Süsal, C. Analysis of positive kidney, heart, and liver transplant crossmatches reported to the Collaborative Transplant Study. *Hum.*

- Immunol.* **70**, 627–630 (2009).
28. Opelz, G. & Döhler, B. Ceppellini Lecture 2012: collateral damage from HLA mismatching in kidney transplantation. *Tissue Antigens* **82**, 235–242 (2013).
 29. Suehiro, T. *et al.* Influence of HLA compatibility and lymphocyte cross-matching on acute cellular rejection following living donor adult liver transplantation. *Liver Int.* **25**, 1182–1188 (2005).
 30. Iwatsuki, S. *et al.* Successful liver transplantation from crossmatch-positive donors. *Transplant. Proc.* **13**, 286–288 (1981).
 31. Gordon, R. D. *et al.* The antibody crossmatch in liver transplantation. *Surgery* **100**, 705–715 (1986).
 32. Bishara, A. *et al.* Is presensitization relevant to liver transplantation outcome? *Hum. Immunol.* **63**, 742–750 (2002).
 33. Goh, A., Scalamogna, M., De Feo, T., Poli, F. & Terasaki, P. I. Human leukocyte antigen crossmatch testing is important for liver retransplantation. *Liver Transpl.* **16**, 308–313 (2010).
 34. Zeevi, A. & Luns, J. G. Human leukocyte antigen antibodies in liver retransplantation. *Liver Transpl.* **16**, 259–261 (2010).
 35. Zhang, X. & Reed, E. F. Effect of antibodies on endothelium. *Am. J. Transplant.* **9**, 2459–2465 (2009).
 36. Cardarelli, F. *et al.* Prevalence and significance of anti-HLA and donor-specific antibodies long-term after renal transplantation. *Transpl. Int.* **18**, 532–540 (2005).
 37. Campos, E. F. *et al.* Post-transplant anti-HLA class II antibodies as risk factor for late kidney allograft failure. *Am. J. Transplant.* **6**, 2316–2320 (2006).
 38. Terasaki, P. I., Ozawa, M. & Castro, R. Four-year follow-up of a prospective trial of HLA and MICA antibodies on kidney graft survival. *Am. J. Transplant.* **7**, 408–415 (2007).
 39. Castillo-Rama, M. *et al.* Preformed antibodies detected by cytotoxic assay or multibead array decrease liver allograft survival: role of human leukocyte antigen compatibility. *Liver Transpl.* **14**, 554–562 (2008).
 40. Iwatsuki, S., Rabin, B. S., Shaw, B. W. & Starzl, T. E. Liver transplantation against T cell-positive warm crossmatches. *Transplant. Proc.* **16**, 1427–1429 (1984).
 41. Demetris, A. J. *et al.* A clinicopathological study of human liver allograft recipients harboring preformed IgG lymphocytotoxic antibodies. *Hepatology* **16**, 671–681

- (1992).
42. Muro, M. *et al.* Liver recipients harbouring anti-donor preformed lymphocytotoxic antibodies exhibit a poor allograft survival at the first year after transplantation: experience of one centre. *Transpl. Immunol.* **14**, 91–97 (2005).
 43. Guichelaar, M. M. J. *et al.* Risk factors for and clinical course of non-anastomotic biliary strictures after liver transplantation. *Am. J. Transplant.* **3**, 885–890 (2003).
 44. Rull, R. *et al.* Intrahepatic biliary lesions after orthotopic liver transplantation. *Transpl. Int.* **14**, 129–134 (2001).
 45. Sanchez-Urdazpal, L. *et al.* Ischemic-type biliary complications after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* **16**, 49–53 (1992).
 46. Kamiike, W. *et al.* Adenine nucleotide metabolism and its relation to organ viability in human liver transplantation. *Transplantation* **45**, 138–143 (1988).
 47. Cisneros, C. *et al.* Analysis of warm ischemia time for prediction of primary nonfunction of the hepatic graft. *Transplant. Proc.* **23**, 1976 (1991).
 48. Heidenhain, C. *et al.* Retrograde reperfusion via vena cava lowers the risk of initial nonfunction but increases the risk of ischemic-type biliary lesions in liver transplantation--a randomized clinical trial. *Transpl. Int.* **19**, 738–748 (2006).
 49. Moench, C., Moench, K., Lohse, A. W., Thies, J. & Otto, G. Prevention of ischemic-type biliary lesions by arterial back-table pressure perfusion. *Liver Transpl.* **9**, 285–289 (2003).
 50. Pirenne, J. *et al.* Type of donor aortic preservation solution and not cold ischemia time is a major determinant of biliary strictures after liver transplantation. *Liver Transpl.* **7**, 540–545 (2001).
 51. Canelo, R., Hakim, N. S. & Ringe, B. Experience with histidine tryptophan ketoglutarate versus University Wisconsin preservation solutions in transplantation. *Int Surg* **88**, 145–151 (2003).
 52. Pfitzmann, R. *Die Lebertransplantation als Therapie des akuten und chronischen Leberversagens.* (2005).
 53. Buck, D. G. & Zajko, A. B. Biliary complications after orthotopic liver transplantation. *Tech Vasc Interv Radiol* **11**, 51–59 (2008).
 54. Hansen, T. *et al.* Histological examination and evaluation of donor bile ducts received during orthotopic liver transplantation--a morphological clue to ischemic-type biliary lesion? *Virchows Arch.* **461**, 41–48 (2012).
 55. O'Leary, J. G. *et al.* The role of donor-specific HLA alloantibodies in liver

- transplantation. *Am. J. Transplant.* **14**, 779–787 (2014).
56. Musat, A. I. *et al.* The significance of donor-specific HLA antibodies in rejection and ductopenia development in ABO compatible liver transplantation. *Am. J. Transplant.* **11**, 500–510 (2011).
 57. Donaldson, P. T. *et al.* IgG donor-specific crossmatches are not associated with graft rejection or poor graft survival after liver transplantation. An assessment by cytotoxicity and flow cytometry. *Transplantation* **60**, 1016–1023 (1995).
 58. Del Bello, A. *et al.* Prevalence, incidence and risk factors for donor-specific anti-HLA antibodies in maintenance liver transplant patients. *Am. J. Transplant.* **14**, 867–875 (2014).
 59. Miyagawa-Hayashino, A. *et al.* Progressive graft fibrosis and donor-specific human leukocyte antigen antibodies in pediatric late liver allografts. *Liver Transpl.* **18**, 1333–1342 (2012).
 60. Yamada, H. *et al.* Humoral immunity is involved in the development of pericentral fibrosis after pediatric live donor liver transplantation. *Pediatr Transplant* **16**, 858–865 (2012).
 61. Knechtle, S. J. & Kwun, J. Unique aspects of rejection and tolerance in liver transplantation. *Semin. Liver Dis.* **29**, 91–101 (2009).
 62. Markiewski, M. M., DeAngelis, R. A. & Lambris, J. D. Liver inflammation and regeneration: two distinct biological phenomena or parallel pathophysiologic processes? *Mol. Immunol.* **43**, 45–56 (2006).
 63. Strazzabosco, M. & Fabris, L. Functional anatomy of normal bile ducts. *Anat Rec (Hoboken)* **291**, 653–660 (2008).
 64. Ludwig, J., Wiesner, R. H., Batts, K. P., Perkins, J. D. & Krom, R. A. The acute vanishing bile duct syndrome (acute irreversible rejection) after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* **7**, 476–483 (1987).
 65. Demetris, A. J. *et al.* Immunopathology of antibodies as effectors of orthotopic liver allograft rejection. *Semin. Liver Dis.* **12**, 51–59 (1992).
 66. Mañez, R. *et al.* Immunoglobulin G lymphocytotoxic antibodies in clinical liver transplantation: studies toward further defining their significance. *Hepatology* **21**, 1345–1352 (1995).
 67. Lunz, J. *et al.* Re-examination of the lymphocytotoxic crossmatch in liver transplantation: can C4d stains help in monitoring? *Am. J. Transplant.* **12**, 171–182 (2012).

68. Thethy, S. *et al.* Management of biliary tract complications after orthotopic liver transplantation. *Clin Transplant* **18**, 647–653 (2004).
69. Hilscher, M., Enders, F. B., Carey, E. J., Lindor, K. D. & Tabibian, J. H. Alkaline phosphatase normalization is a biomarker of improved survival in primary sclerosing cholangitis. *Ann Hepatol* **15**, 246–253 (2016).
70. Zhu, Z.-J. *et al.* Liver retransplantation for ischemic-type biliary lesions after orthotopic liver transplantation: a clinical report of 66 cases. *HBPD INT* **7**, 471–475 (2008).
71. Cursio, R. & Gugenheim, J. Ischemia-Reperfusion Injury and Ischemic-Type Biliary Lesions following Liver Transplantation. *J Transplant* **2012**, 164329 (2012).
72. Verdonk, R. C., Buis, C. I., Porte, R. J. & Haagsma, E. B. Biliary complications after liver transplantation: a review. *Scand. J. Gastroenterol. Suppl.* 89–101 (2006). doi:10.1080/00365520600664375
73. Abu-Elmagd, K. M. *et al.* Preformed and de novo donor specific antibodies in visceral transplantation: long-term outcome with special reference to the liver. *Am. J. Transplant.* **12**, 3047–3060 (2012).
74. Bortz, W. M. The physics of frailty. *J Am Geriatr Soc* **41**, 1004–1008 (1993).

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Katharina Schulte, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Ischemic Type Biliary Lesions (ITBL) nach orthotoper Lebertransplantation – Spielen donorspezifische HLA-Antikörper pathophysiologisch eine Rolle?“

selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche

in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Danksagung

Meine Danksagung wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.