

B. Einleitung

1. Die Entwicklung der Lebertransplantation

Bereits im 17. Jahrhundert gab es erste Versuche, zerstörte menschliche Haut durch Gewebe von Tieren zu ersetzen (1). Zu Beginn des 20. Jahrhunderts entwickelten sich dank ausgedehnter Fortschritte auf dem Gebiet der Gefäßchirurgie die Voraussetzungen zur Transplantation von Organen. In Lyon wurde 1906 erstmalig - allerdings erfolglos - versucht Nieren vom Tier einem Menschen zu transplantieren (2). Trotz großer Schwierigkeiten, vor allem mit Abstoßungsreaktionen, wurden bis Mitte der 50er Jahre auf dem Gebiet der Organtransplantation große Fortschritte erzielt.

So führte der amerikanische Arzt Joseph Murray 1954 (3) die erste erfolgreiche Nierentransplantation durch und Christiaan Barnard pflanzte 1967 erstmals erfolgreich ein menschliches Herz einem anderen Menschen ein (4). Lebertransplantationen blieben allerdings problematisch und die Entwicklung stagnierte. Erst 1955 führte Claude Welch die erste auxiliäre Lebertransplantation im Tierversuch durch (5). Es dauerte bis 1963 bis der amerikanische Chirurg Thomas E. Starzl, nach über 200 Tierexperimenten, die ersten drei Lebertransplantationen an Menschen wagte. Der erste Patient starb noch während der Operation, der zweite nach siebeneinhalb und der dritte nach 22 Tagen (6,7).

Probleme bereiteten den Chirurgen unter anderem die kurze Zeit, in der eine Leber nach der Trennung von der Blutversorgung des Spenders implantiert werden musste und die Immunsuppression. Zudem war die Operationstechnik noch wenig entwickelt.

Bis 1969 wurden weltweit 109 Lebertransplantationen durchgeführt, nur 8 Patienten überlebten, die maximale Überlebensdauer betrug 26 Monate. Es dauerte bis zu Beginn der 70er Jahre, bis deutliche Fortschritte erzielt wurden. So berichtete L.H. Toledo-Pereyra 1975 erstmals über eine erfolgreiche Perfusionskonservierung einer Leber über 24 Stunden (8).

Der entscheidende Durchbruch gelang jedoch erst Anfang der 80er Jahre durch die Einführung von Cyclosporin A. Das Medikament zur Immunsuppression wurde erstmals 1976 von Jean Francois Borel, Leiter der mikrobiologischen Abteilung der Firma Sandoz (heute Novartis) vorgestellt. Die Mikrobiologen der Firma hatten aus einer Bodenprobe einen Pilz isoliert, der ein Stoffwechselprodukt enthielt, das sich in Tierversuchen bald als wirksames Immunsuppressivum erwies und Cyclosporin A genannt wurde (9).

Im Jahre 1977 wurde Roy Calne in Cambridge auf Cyclosporin A aufmerksam und ließ die Wirkung in Tierversuchen überprüfen – die Ergebnisse waren hervorragend. Allerdings stellte sich bei den klinischen Versuchen in Cambridge heraus, dass das Medikament nierenschädliche Nebenwirkungen hat, die über die Dosierung jedoch vermindert werden können. 1978 führte Calne Cyclosporin A in Cambridge klinisch ein (10). 1982 wurde das Medikament offiziell in die weltweit gültige Liste der immunsuppressiven Medikamente aufgenommen.

Die Anwendung von Cyclosporin A verbesserte auf breiter Basis die Erfolgsraten bei allen Organtransplantationen, auch die Überlebenszeiten der Patienten stiegen deutlich an. Besonders erfolgreich war der Einsatz von Cyclosporin A bei Lebertransplantationen. Die Zahl der frühen akuten Abstoßungen verringerte sich auf 40 % von zuvor 80 %. Die Ein-Jahres-Überlebensrate verdoppelte sich auf 70 % (7, 11, 12,13).

Zu dieser Entwicklung trugen neben Cyclosporin A aber auch Fortschritte in der chirurgischen Technik, der Anästhesie sowie eine sorgfältigere Patienten-Selektion und Verbesserungen bei den Konservierungsmethoden bei (23).

Im Jahr 1984 wurde mit FK506 (Prograf, Fujisawa, Osaka, Japan) zudem ein weiteres, im Vergleich zu Cyclosporin A noch potenteres Immunsuppressivum entdeckt, mit dem akute und chronische Abstoßungen besser verhindert und frühe chronische Abstoßungen therapiert werden können. 1989 wurde das Medikament erstmals bei einer schweren Abstoßungsreaktion erfolgreich eingesetzt (14-19).

In Deutschland werden seit 1997 jährlich über 700 Lebern transplantiert, die Zahl der Neuanmeldungen liegt jedoch wesentlich höher. Im Jahr 2001 warteten über 1.100 Menschen auf eine neue Leber, 757 wurden transplantiert. Die wichtigsten Transplantationszentren befinden sich in Hannover (95 Transplantationen in 2001) und an der Berliner Charité (87 Transplantationen in 2001) (20).

Die unzureichende Menge an geeigneten Organen ist damit zu einem Hauptproblem der Lebertransplantation wie in der Transplantationsmedizin überhaupt geworden. Bei Lebertransplantationen zeigte sich in den letzten Jahren allerdings, dass auch kritische Spenderorgane gute postoperative Ergebnisse und Transplantatüberlebensraten haben, so dass die Spenderkriterien großzügiger behandelt werden können (7).

Auf Grund der Limitierung der zur Verfügung stehenden Organe werden in Deutschland vermehrt auch so genannte „Split-liver“- oder Verwandten-Transplantationen durchgeführt.

Dabei kann durch eine Teilung der Leber 2 Organempfängern geholfen werden bzw. ein lebender nicht-zirrhotischer Spender spendet die Lebersegmente II und III an einen Empfänger. Die erste Split-liver-Transplantation wurde in Deutschland 1988 durchgeführt (7, 21, 22).

2. Komplikationen nach der Lebertransplantation

Infektionen gehören zu den häufigsten Ursachen für Morbidität und Mortalität nach orthotoper Lebertransplantation (OLT). Die Infektionsrate nach OLT variiert zwischen 50% und 83%, wobei der Hauptanteil der Infektionen bakterieller Genese ist (v.a. Enterobacteriaceae). Allerdings sind virale (v.a. CMV, HBV-Reinfektion) und fungale (v.a. Candida, Aspergillus) Superinfektionen, besonders nach hochdosierter Steroidgabe und OKT3-Therapie wegen Abstoßungsreaktionen, in vielen Fällen mit einem letalen Ausgang assoziiert (24-28).

Folgende Faktoren begünstigen eine Infektion bei lebertransplantierten Patienten:

Überimmunsuppression und Antiabstoßungstherapie mit mALG, OKT3 oder FK506

Reaktivierung eines latenten Virus

Hepatische Insuffizienz wegen hepatozellulärer Schädigung durch Organpreservierungsschäden

Chirurgische Komplikationen (u.a. die Anzahl intraoperativ benötigter Blutkonserven und Operationsdauer) (11, 12, 29).

Entscheidende Verbesserungen können durch eine gezielte Infektionsprophylaxe erreicht werden. Hierzu gehören z.B. die präoperative selektive Darmdekontamination (SDD) gegen gramnegative Keime (30).

Neben den Infektionen sind Organabstoßungsreaktionen die häufigste Ursache für Komplikationen nach Lebertransplantation. 25% - 35% der Patienten entwickeln innerhalb des ersten Monats nach Transplantation eine akute Abstoßung. Je nach Transplantationszentrum und Beobachtungszeitraum steigt die Inzidenz von akuten Rejektionen auf 50% - 80% (31, 32, 33).

Die meisten dieser akuten Rejektionen können erfolgreich mit Methylprednisolon behandelt werden. Ein Teil ist jedoch steroid-resistent und erfordert den Einsatz von potenteren Immunsuppressiva wie OKT3 oder FK506 (16, 17). Diese Therapie erhöht bei akuten Abstoßungen wiederum das Infektionsrisiko.

3. *Transforming Growth Factor Beta*

Die Proteine, die jetzt Transforming Growth Factor- β (TGF- β) genannt werden, wurden in den letzten 10-15 Jahren mehrfach entdeckt. Jede einzelne dieser unabhängigen Entdeckungen spiegelt eine jeweils andere Funktion für ein und dasselbe Protein wieder. Daher wurde TGF- β zunächst unter verschiedenen Namen wie BSC-1 growth inhibitor, Cartilage-inducing Factors A and B und Polyergin, bekannt (34, 35).

TGF- β Familie:

Die TGF- β Familie in Säugetieren besteht aus drei verwandten Proteinen: TGF- β_1 , TGF- β_2 und TGF- β_3 . Das wirksame TGF- β besteht aus 112 Aminosäuren (34).

Funktionen von TGF- β :

Bei der ersten Entdeckung von TGF- β dachte man, dass es ausschließlich eine Rolle bei der Tumorentwicklung spielt. Heute weiß man, dass TGF- β eine Vielzahl von Wirkungen auf fast alle Zellen hat und viele physiologische Prozesse reguliert (36, 37, 40, 41, 55, 61).

Verschiedene Zellen können auf das gleiche TGF- β Protein auf völlig unterschiedliche Weise - sogar gegensätzlich – reagieren:

Stimulierung der Zellproliferation

Inhibierung der Zellproliferation

Inhibition der Differenzierung einiger Zellen

Stimulation der Differenzierung einiger anderer Zellen

Stimulation der Zellmigration

Potenter Wachstumsregulator (z.B. Bindegewebe)

Durch diese verschiedenen Wirkungsweisen unterscheidet sich TGF- β grundsätzlich von anderen Wachstumsfaktoren (growth factors) wie FGF (Fibroblast Growth Factor), EGF

(Epidermal Growth Factor), PDGF (Platelet-Derived Growth Factor), etc., so dass der Name “growth factor” für TGF- β etwas unglücklich gewählt wurde (34, 44, 45, 47).

Die Effekte von TGF- β auf Zellproliferation und Zelldifferenzierung haben wahrscheinlich mehrere Wirkungsmechanismen (77, 79):

Induktion der Synthese und Sekretion vieler Proteine der extrazellulären Matrix (Kollagene, Fibronectin, Thrombospondin, Tenacin, Osteopontin, Osteonectin und Proteoglykane) => Vermehrung der ECM

Erhöhung der Expression vieler Integrine (Zell-Adhäsions-Rezeptoren) => Vermehrte Zelladhäsion und Gen-Expression und Zelldifferenzierung durch „integrin-mediated intracellular signalling“

Regulation der Proteasen (\downarrow) und Proteasen-Inhibitoren (\uparrow) Synthese und Aktivität. => Vermehrung der ECM

Chemotaktische Wirkung, besonders auf Monozyten und Fibroblasten. => Wundheilung, Gewebsregeneration

Diese Multifunktionalität impliziert, dass TGF- β eine wichtige Rolle in der Embryogenese spielt.

Konkret hat TGF- β auf folgende Systeme Einfluss (35, 83):

Immunantwort

Wundheilung

Organ- und Gewebsentwicklung

TGF- β im Immunsystem:

Es gibt starke Anzeichen, dass TGF- β auch eine immunmodulatorische Funktion besitzt. Fast alle Immunzellen, wie Monozyten und Lymphozyten synthetisieren TGF- β_1 . Zielzellen dieser latenten Form des TGF- β sind nicht nur Immunzellen, sondern auch Gewebszellen, wie Endothelzellen oder Tumorzellen. Wahrscheinlich besitzen die Lymphozyten und besonders die Monozyten die benötigten Proteasen, um die latente Form des TGF- β zu aktivieren (36, 40, 43, 44, 48, 50, 55).

Die potenteste Wirkung des TGF- β auf Lymphozyten ist der antiproliferative Effekt. TGF- β inhibiert die Proliferation von T-Lymphozyten, B-Lymphozyten, Thymuszellen, Granulozyten, NK-Zellen und LAK-Zellen (58, 68, 71, 72, 76, 83).

Ferner verringert TGF- β die Expression vieler Cytokine, die eine potentielle Wirkung auf die aktivierten Zellen hätten. So inhibiert TGF- β die Effekte und/oder Produktion von INF γ , TNF- α , TNF- β , IL-1, IL-2, IL -3 und die Expression des IL-2 Rezeptors (42).

TGF- β in der Embryogenese:

Die Funktionen von TGF- β sind der Embryogenese ist sicherlich vielfältig, allerdings, zumindest in vivo, wenig erforscht. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass TGF- β an der Differenzierung von undifferenzierten Mesenchymalzellen in z.Bsp. Chondrozyten, Osteoblasten mitwirkt (35, 49).

Ferner wird TGF- β während der Embryogenese auch in Epithelzellen synthetisiert, so dass angenommen werden kann, dass TGF- β auch bei der Entwicklung von komplexen epithelialen Strukturen, wie Lunge oder Brustdrüse eine wichtige Rolle spielt (41).

TGF- β in der Tumorentstehung:

In der Tumorentstehung scheint der Effekt von TGF- β weniger in der Tumorentwicklung zu liegen, als in der Beschleunigung des Tumorwachstums. Dieser Effekt beruht hauptsächlich auf der durch TGF- β induzierten vermehrten Synthese der extrazellulären Matrix (37, 50, 65, 73, 75, 80).

TGF- β : Die Wirkungen auf die Leberzellen:

Während TGF- α und der Hepatozyten-Wachstumsfaktor (HGF) als wichtigste Mitogene für Hepatozyten gelten, ist TGF- β der potenteste Inhibitor der hepatozellulären Proliferation (47, 51-54).

Allerdings gilt TGF- β auch als der wirksamste fibrogene Mediator, so dass TGF- β eine große Rolle in der Entstehung einer Leberfibrose und somit in der konsekutiven Zirrhose spielt. Bei der Fibrosierung der Leber ist der Kollaps des Leberparenchyms nur von untergeordneter Bedeutung. Dagegen spielen die vermehrte Synthese und Ablagerung der ECM (Fibrogenese), häufig kombiniert mit ihrem verminderten Abbau (Fibrolyse), die entscheidende Rolle (56, 58).

Da TGF- β gerade diese Synthese vieler Proteine der ECM stimuliert, ist die Wirkung von TGF- β bei der Entstehung einer Leberzirrhose ersichtlich. Allerdings ist dieser „Reparaturmechanismus“ nur eine Reaktion auf eine lebertoxische Noxe, bei der es zu einer überschießenden und letztlich deregulierten Wundheilung bei fortgesetzter Schädigung kommt (59, 60, 63, 66).

In der Transplantationsimmunologie sollte man annehmen, dass hohe TGF- β -Spiegel einer Transplantatabstoßungsreaktion entgegenwirken (s.o.). Tatsächlich zeigt sich in unserer Studie ein TGF- β -Peak 48 Stunden nach Reperfusion bei den Patienten mit unauffälligen Verläufen. Dieser Peak ist signifikant bei Patienten, die keine Abstoßungsreaktion zeigen und keine Infekte haben.

Ferner zeigt eine Studie von Hayashi et al. (82) keine Hochregulation von TGF- β bei chronischer Abstoßung von Lebertransplantaten. Diese Studie wurde an 15 Patienten mit CR mittels PCR an Leberbiopsien erstellt.

Außerdem zeigen sich TGF- β -Peaks bei Patienten mit einer schweren Infektion (15 min nach Reperfusion) und eine Hochregulation von TGF- β bei Patienten mit einer schweren Infektion in Kombination mit einer CMV-Infektion bis 12 Stunden nach Reperfusion, mit einem deutlichen konsekutivem Abfall.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Funktionen von TGF- β vielfältig sind. Besonders hervorzuheben sind allerdings die immunsuppressive Wirkung und die Stimulation der Gewebsbildung, sei es im Rahmen der Wundheilung oder Fibrosierung von Organen.

Besonders die *in vivo* Aktivität von TGF- β aber bedarf noch weiterer Forschung, um die komplexen molekularen Mechanismen und Wirkungsweisen weiter zu erleuchten.

4. Fragestellung

Zeigt sich ein Unterschied im TGF- β Spiegel nach Lebertransplantation aufgrund unterschiedlicher Grunderkrankungen?

Gibt es eine signifikante Differenz der TGF- β Konzentration im leber- und zentralvenösem Blut?

Ist TGF- β ein früher Indikator für eine akute Abstoßungsreaktion?

Ist es möglich anhand des TGF- β Spiegels zwischen steroid-sensiblen und steroid-resistenten akuten Rejektionen zu differenzieren?

Ermöglicht die TGF- β Bestimmung eine Vorhersage über Schweregrad und Verlauf von Infektionen?