

## **E. Diskussion**

### *1. Studienziele*

Fortschritte im Bereich der Organ-Konservierung, der chirurgischen Techniken, der Immunsuppression und der Prophylaxe und Therapie von infektiösen Komplikationen haben dazu geführt, dass die Lebertransplantation sich zur anerkannten Standardtherapie von terminalen und akuten Lebererkrankungen entwickelt hat.

Trotz aller Erfolge der letzten Jahrzehnte, die zu 1-Jahres Transplantat- und Patientenüberlebensraten von über 90% geführt haben, bleiben Infektionen und Abstoßungsreaktionen relevante Komplikationen nach Lebertransplantation.

Gelänge es diese Komplikationen noch frühzeitiger und differenzierter zu diagnostizieren, könnte man die notwendige Therapie früher beginnen und besser individuell adaptieren.

Etablierte Routineparameter, wie Bilirubin, Quick, AST, ALT,  $\gamma$ -GT und CRP, die zur postoperativen Patienten- und Transplantatüberwachung bestimmt werden, sind wenig spezifisch. Gelänge es einen Laborparameter zu identifizieren, der es z. Bsp. erlaubt, eindeutig zwischen Infektion und Rejektion oder zwischen steroid-sensitiver und steroid-resistenter Abstoßung zu differenzieren, könnte man die Ergebnisse nach Lebertransplantation weiter verbessern.

Gerade wegen der vielfältigen Wirkungsmechanismen von TGF- $\beta$  in der Immunantwort und Gewebsentwicklung könnte man zu dem Schluss kommen, dass TGF- $\beta$  ein geeigneter Parameter ist, um den postoperativen Verlauf nach Lebertransplantation zu überwachen. Insbesondere im Rahmen der Abstoßungsreaktionen könnte TGF- $\beta$  die Diagnostik mit etablierten Routineparametern ergänzen.

Ziel dieser Studie war es herauszufinden, inwiefern TGF- $\beta$  geeignet ist mögliche Komplikationen frühzeitig zu erkennen, oder ob es mittels TGF- $\beta$  möglich ist, sensitiv zwischen verschiedenen Komplikationen zu differenzieren.

Ferner wurde die Potenz von TGF- $\beta$  als diagnostischer Verlaufsparemeter und seine prognostische Aussagekraft untersucht.

Zu diesem Zweck wurde in dieser Studie prospektiv der prä-, intra- und postoperative, venöse TGF- $\beta$  Spiegel bei 81 Patienten mit 85 Lebertransplantationen bestimmt.

## 2. *TGF- $\beta$ während akuten und chronischen Abstoßungen*

Die Reaktionen des Empfängers auf transplantiertes Gewebe ist noch immer einer der wesentlichen Faktoren im Verlauf von Transplantationen im Allgemeinen. Im Verlaufe der Studie ergaben sich 14 steroid-resistente akute, 14 steroid-sensible akute und 4 frühe chronische Abstoßungsreaktionen. So konnte überprüft werden, ob sich TGF- $\beta$  als geeigneter oder gar überlegener Indikator für diese Komplikation eignet.

Dieser sensiblen Phase der Organtransplantation haben sich schon viele Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler gewidmet. Die größte Rolle scheint TGF- $\beta$  im Rahmen der chronischen Abstoßungsreaktion zu spielen. Hävry et al. (74) weisen in ihrer grundlegenden Arbeit darauf hin, dass 4% - 17% aller Transplantierten eine chronische Abstoßung erleiden. Diese manifestiert sich hauptsächlich in Form der Vaskulopathie, die wiederum wird von erhöhten Wachstumsfaktoren glatter Gefäßmuskelzellen – darunter TGF- $\beta$  - begleitet. Dies geht in der Leber mit dem Verlust der kleinen Gallengänge einher (82).

Eine der vorrangigen Wirkungsweisen von TGF- $\beta$  ist die Regulation der extrazellulären Matrixproduktion, was die Fibrosierung beschleunigt (42, 83).

Bekannt ist bezüglich der Wirkungsweise von Lihui Qin et al. (84) zudem, dass TGF- $\beta$  in der körpereigenen Immunantwort eine immunsuppressive Wirkung aufweist (78, 85, 86, 89).

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass TGF- $\beta$  auch im Falle einer Abstoßungsreaktion der Leber eine prominente Rolle spielen könnte. Erhöhte Werte wurden in den Fällen der chronischen Abstoßung, in der die Vaskulopathie und Fibrosierung vorherrschen, nach vorliegender Literatur erwartet (42, 64 74, 84-87).

Krams et al. (88) fanden heraus, dass die TGF- $\beta$ 1 Genexpression und die Apoptose von Hepatozyten während der akuten Abstoßung von transplantierten Lebern bei Ratten korrelierte.

Doch auch in anderen Studien zu akuten Rejektionen bei transplantierten Herzen und Nieren zeigt sich eine Beteiligung von TGF- $\beta$  an der Abstoßungsreaktion (48, 89, 90).

Zhao et al. 1993 (86) fanden in ihren Studien zu Herztransplantationen erhöhte TGF- $\beta$ -Werte bei Rejektionsprozessen. Waltenberger et al. (85) unterscheiden deutlich zwischen akuter und chronischer Reaktion und stellen ebenfalls stark erhöhte Werte im chronischen Verlauf fest. Im Falle der akuten Reaktionen erhöhten sich die TGF- $\beta$ -Werte nur geringfügig.

Bei Empfängern von Nierentransplantaten kam es in einer Studie von Coupes et al. (42) generell zu einer Erhöhung der TGF- $\beta$ -Werte, allerdings unterschieden sich die Empfängergruppen nicht signifikant untereinander.

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich im Vergleich zu den unauffälligen Verläufen in keiner der Gruppen eine signifikante Differenz im Bereich der Werte vor und unmittelbar nach der Diagnosestellung. Demnach eignet sich TGF- $\beta$  weder als Indikator noch als früher prognostischer Parameter für diese Komplikationen.

Im Verlauf allerdings zeigte sich ein deutlicher Anstieg des TGF- $\beta$  bei stereoide-sensiblen Abstoßungsreaktionen, der sich am dritten Tag nach Diagnosestellung normalisiert. Die Werte der Patienten mit chronischer Abstoßung lagen ab Diagnosestellung durchweg unter den unauffälligen Verläufen. Der Mittelwert während des Beobachtungszeitraumes ist signifikant niedriger. Diese Beobachtung steht im Gegensatz zu den vorherrschenden Befunden anderer Studien.

Die Beobachtungsdauer von 20 Tagen war nicht ausreichend, um eine sichere Aussage darüber zu treffen, ob TGF- $\beta$  sich zur sicheren oder überlegenen Verlaufsbeobachtung chronischer Abstoßungsreaktionen eignet. Der Beobachtungszeitraum müsste ausgedehnt werden und direkt mit der Standarddiagnostik von alkalischer Phosphatase, Gammaglutamyltranspeptidase und Bilirubin verglichen werden. Außerdem wurde nur in vier Fällen eine frühe chronische Abstoßungsreaktion diagnostiziert. Das ist weniger eine Grundlage für statistisch haltbare Aussagen, es ist eher als bemerkenswerte Beobachtung zu bewerten. Die Studie hatte von vorneherein einen Focus auf kurzzeitige Beobachtungen und die akute Rejektion.

### *3. TGF- $\beta$ im Verlauf von Infektionen*

Neben den Abstoßungsreaktionen sind die Infektionen eine gefürchtete Komplikation und verschlechtern die Prognose der Patienten erheblich (11, 13, 96). Während der Studie erlitten 10 von den 81 Patienten postoperativ eine schwerwiegende Infektion und 11 eine milde oder asymptomatische Cholangitis.

Die Patienten mit einer milden Cholangitis unterschieden sich in ihren TGF- $\beta$ -Werten nicht von den unauffälligen Verläufen. Nach Diagnosestellung wurde unmittelbar die entsprechende antibiotische Behandlung eingeleitet und es ergaben sich prognostisch im Follow-up keine Nachteile.

Anders verhält es sich hingegen mit der schwerwiegenden Infektion (siehe Definition S. 18). Fünf der zehn Patienten überlebten diese Komplikation nicht, sie stellen den Hauptanteil unter den neun verstorbenen Patienten insgesamt. Deshalb wäre es besonders hilfreich hier einen frühen diagnostischen Marker zu finden. In der vorliegenden Studie fällt der stark erhöhte TGF- $\beta$ -Mittelwert der Patienten mit schwerwiegender Infektion ins Auge.

Die Wirkung des TGF- $\beta$  im Entzündungsgeschehen ist vielfach untersucht worden, mit Teils widersprüchlichen Ergebnissen. Einerseits wird dem TGF- $\beta$  eine immunstimulierende Wirkung zugeschrieben. Rove et al. (45) stellten bei lokaler Applikation eine chemotaktische Wirkung auf Fibroblasten und Leukozyten fest. Die chemotaktische Wirkung wurde von mehreren Forschungsgruppen ebenso gefunden. Hier steht die proinflammatorische und fibrosierende Wirkung im Vordergrund (62, 68, 69, 71).

Andererseits werden immunsuppressive Wirkungen beobachtet. Insbesondere ist dies bei Untersuchungen zur systemischen Wirkungsweise von TGF- $\beta$  beobachtet worden (91, 92). So hemmt TGF- $\beta$  in vitro die Proliferation und Differenzierung der meisten B- und T-Zell Linien und antagonisiert die Effekte verschiedener Cytokine wie z.B. IL-1  $\beta$ , TNF $\alpha$  und INF $\gamma$  (92).

Unzweifelhaft ist der immunmodulatorische Einfluss des TGF- $\beta$ . Unklar ist allerdings bislang, in welchem Zusammenhang TGF- $\beta$  eine verursachende, initiierende Rolle einnimmt oder gemessene Werte im Serum Ausdruck von Reaktion auf die komplexen Geschehen im Entzündungsprozess darstellen.

In der Zusammenschau der Ergebnisse der vorliegenden Studie mit den Ergebnisse anderer Forschungsgruppen, könnte die Betrachtung des frühen TGF- $\beta$ -Wertes der Patienten mit schwerwiegenden Infekten durchaus ein Ausdruck des entzündlichen Geschehens sein. Es bleibt allerdings offen, ob TGF- $\beta$  ein besonderer Indikator für Lebertransplantierte darstellt, da es im Körper ubiquitär vorkommt und von vielen auch ausdifferenzierten Zellen gebildet wird (34).

Die Anzahl der beobachteten Fälle mit einer schwerwiegenden Infektion ist mit zehn sehr gering. Zudem müssen insbesondere die multifaktoriellen und interagierenden Prozesse in der komplexen und heterogenen Situation der Patienten berücksichtigt werden. Die Patienten litten an verschiedenen Grunderkrankungen, erfuhren neben der Operation intensive Medikation stark wirksamer Präparate, unter anderem waren sie immunsupprimiert. Für das allen Patienten verabreichte Cyclosporin A ist z.B. hinlänglich bekannt, dass es zu einer signifikanten Erhöhung des TGF- $\beta$ -Spiegel kommt (93-95).

Hieraus lässt sich definitiv keine verlässliche Aussage treffen, jedoch sollte der TGF- $\beta$ -Wert in einem geeigneten Patientenkollektiv prospektiv beobachtet werden. Die schlechte Prognose der schweren Komplikation rechtfertigt es, diese Möglichkeit sicher auszuschließen. Da sich mittlerweile das FK 506 den Cyclosporin A in der Lebertransplantationstherapie als überlegen erwiesen hat (12, 14, 15, 96), müsste dies in den Untersuchungen mitberücksichtigt werden.

#### *4. TGF- $\beta$ In Bezug auf die Initialfunktion*

Die groß angelegte Studie in deren Rahmen auch die vorliegende Arbeit durchgeführt wurde, hatte eher ein Screening nach zusätzlichen Parametern neben den bereits etablierten zum Ziel. So lautete die Fragestellung: Spielt TGF- $\beta$  im Bezug auf die initiale Transplantatfunktion überhaupt eine Rolle?

Die vorliegenden Ergebnisse bieten diesbezüglich keinerlei Anhaltspunkte. Die Verlaufskurven der Serum TGF- $\beta$ -Werte in den 3 Gruppen (gute, mäßige und schlechte initiale Funktion) unterschieden kaum und wiesen keinerlei statistisch signifikante Abweichungen auf.

Das Ergebnis war zu erwarten, denn das Ausmaß der Leberschädigung während der Transplantation wird maßgeblich durch die kalte Ischämiezeit und die Reperfusion bestimmt (11, 13, 21). Hierbei handelt es sich um eine Schädigung der sinusoidalen Epithelzellen der Leber sowie zu einer Störung der Mikrozirkulation, die konsekutiv zu einer Schädigung der Hepatozyten führt (51–54). Das Ausmaß der Leberschädigung ist neben der Dauer der intensivmedizinischen Behandlung und Alter des Spenders, Fettgehalt des Transplantats, des intraoperativen Blutverlusts und der Nierenfunktion des Empfängers maßgeblich für die initiale Transplantatfunktion verantwortlich (11).

Da sich die Hauptfunktionen von TGF- $\beta$  im Bereich der Immunmodulation und durch fibrosierende Wirkung manifestieren, ist auch nicht mit einem Einfluss von TGF- $\beta$  in diesem Prozess zu rechnen gewesen.

#### *5. TGF- $\beta$ im zentral- und lebervenösen Blut*

Eine der ursprünglichen Ideen der Gesamtstudie war der Vergleich von verschiedenen Parametern im Leber- zu Zentralvenösem Blut. Man erhoffte sich besser auf das akute Geschehen in der transplantierten Leber schließen zu können. Zu diesem Zweck wurde innerhalb der ersten 48 Stunden nach Reperfusion Blut sowohl leber-, als auch zentralvenös entnommen.

Es war ein Novum den Lebervenenkatheter gemeinsam mit dem Zentralvenösenkatheter am Patienten zu haben. Die Risiken möglicher Komplikationen abgewogen, wurde eine Verweildauer von 48 als Maximum festgelegt. Da TGF- $\beta$  bekannte immunsuppressive Effekte hat (85), wird von einer Beteiligung von TGF- $\beta$  in der Immunantwort nach Organtransplantation ausgegangen. Dieser mögliche Effekt spiegelt sich allerdings nicht in unterschiedlichen Serumspiegeln von TGF- $\beta$  in leber- und zentralvenösem Blut während der ersten 48 Stunden nach Reperfusion in der vorliegenden Studie wieder. Die Mittelwerte von TGF- $\beta$  waren mit  $358 \pm 32$  pg/ml im lebervenösen und  $351 \pm 37$  pg/ml im zentralvenösen Blut nahezu identisch. Auch die Verlaufskurven waren eher homogen und wiesen keinerlei statistische Signifikanz auf.

Im Tierversuch wurden erhöhte TGF- $\beta$ -Spiegel bereits 12 Stunden nach Transplantation gemessen (88).