

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

DISSERTATION

Einflussfaktoren auf den Verlauf der Reinfektionshepatitis nach  
orthotoper Lebertransplantation

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Fabian Spies

aus Bonn

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. U. P. Neumann  
2. Prof. Dr. med. H. Schmidt  
3. Prof. Dr. med. R. Somasundaram

Datum der Promotion: 21.11.2008



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Virushepatitis	1
1.2	Hepatitis C	1
1.2.1	Geschichte	1
1.2.2	Epidemiologie	1
1.2.3	Hepatitis-C-Virus	2
1.2.4	Klinik und Verlauf	4
1.2.4.1	Akute Hepatitis C	4
1.2.4.2	Chronische Hepatitis C	4
1.3	Lebertransplantation	5
1.3.1	Geschichte der Lebertransplantation	5
1.3.2	Immunsuppression nach Lebertransplantation	6
1.3.3	Postoperativer Verlauf nach Lebertransplantation	7
1.4	Antivirale Therapie	8
1.5	Einflussfaktoren für den Verlauf nach orthotoper Lebertransplantation	10
1.5.1	Einfluss von Eisen auf den Fibroseverlauf	11
1.5.2	Hämochromatose und Leberfibrose	11
1.5.3	Polymorphismen des Angiotensinogen-Gens und Leberfibrose	12
1.6	Verlaufsdagnostik bei HCV-Patienten: Leberbiopsie und nicht-invasive Methoden	13
<b>2</b>	<b>Zielsetzung und Fragestellung der Arbeit</b>	<b>17</b>
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>18</b>
3.1	Patienten	18
3.1.1	Subgruppen	19
3.1.1.1	Präoperative Evaluation des Transplantates	19
3.1.1.2	Patienten mit Polymorphismen im HFE- und AGT-Gen	21
3.2	Diagnostik der HCV-Infektion	22
3.2.1	Serologische Diagnostik	22
3.2.2	Molekularbiologische Diagnostik	23
3.2.2.1	Qualitative Verfahren	23
3.2.2.2	Quantitative Verfahren	24
3.2.3	HCV-Typisierungsverfahren	25

3.3	Operationstechniken .....	25
3.4	Postoperative Nachsorge .....	25
3.4.1	Initiale Organfunktion .....	26
3.4.2	Laborparameter zum 1-Jahreszeitpunkt.....	26
3.4.3	Laborparameter zum 3-Jahreszeitpunkt.....	27
3.4.4	Laborparameter zum 5-Jahreszeitpunkt.....	27
3.5	Immunsuppression und Abstoßungsreaktionen .....	27
3.6	Histologische Untersuchung der Leberbiopsien .....	28
3.7	Statistische Analysen .....	29
<b>4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>32</b>
4.1	Patienten- und Transplantatüberleben .....	32
4.1.1	Überlebensraten.....	32
4.1.2	Retransplantationen .....	33
4.1.3	Mit dem Patienten- und Transplantatüberleben assoziierte Faktoren in univariater und multivariater Analyse .....	33
4.2	Der histologische Verlauf .....	38
4.2.1	Fibroseentwicklung nach Lebertransplantation .....	38
4.2.2	Mit dem Fortschreiten der Fibrose assoziierte Faktoren .....	39
4.2.3	Fibroseprädiktion mittels nicht-invasiver Messverfahren.....	43
4.2.3.1	Prädiktives Modell (Donor-age-related-fibrosis-index, DARFI) mit AUCs und „Cut-off“-Werten.....	43
4.2.3.2	AUC und „Cut-off“-Werte verschiedener nicht-invasiver Messverfahren .....	44
4.2.3.3	Vergleich der nicht-invasiven Messverfahren und des DARFI.....	46
4.3	Subgruppe Spenderfaktoren .....	49
4.3.1	Spendercharakteristika und Spenderhistologie .....	49
4.3.2	Überlebensraten.....	50
4.3.3	Fibroseprogression nach OLT .....	51
4.3.4	Verlauf der Viruslast nach OLT .....	51
4.4	Subgruppe genetische Faktoren und Eisenstoffwechsel.....	52
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>54</b>
5.1	Mit dem klinischen und histologischen Verlauf assoziierte Faktoren.....	56
5.1.1	Rolle der Initialfunktion des Transplantates nach OLT .....	58

5.1.2	Weitere mit dem klinischen und histologischen Verlauf assoziierte Faktoren.....	60
5.2	Der histologische Verlauf .....	63
5.3	Subgruppe Spenderfaktoren .....	65
5.4	Subgruppe genetische Faktoren und Eisenstoffwechsel.....	67
5.5	Fibroseprädiktion mittels nicht-invasiver Messverfahren.....	70
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>75</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>77</b>
<b>8</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>88</b>
8.1	Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen.....	88
8.2	Tabellenverzeichnis .....	92
8.3	Abbildungsverzeichnis .....	94
	<b>Danksagung.....</b>	<b>95</b>
	<b>Erklärung an Eides Statt .....</b>	<b>97</b>
	<b>Lebenslauf.....</b>	<b>98</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Virushepatitis

Eine virale Hepatitis beschreibt eine Entzündung der Leber, die durch ein hepatotropes Virus (A, B, C, D, E, F, G) verursacht wird. Charakteristisch sind akute und chronische Verläufe, die vom Virustyp, von Umwelteinflüssen und wirtseigenen Faktoren abhängen [53].

## 1.2 Hepatitis C

### 1.2.1 Geschichte

Seit 1983 wurden die akuten Virushepatitiden, die nicht durch das Hepatitis-A-Virus (HAV) oder Hepatitis-B-Virus (HBV) verursacht waren, unter dem Terminus Non-A-Non-B-Hepatitis (NANB-Hepatitis) geführt [53]. Im Jahre 1989 gelang es der Arbeitsgruppe von Q.L. Choo [25] einen weiteren Erreger der akuten Virushepatitis aus dem Serum eines artifiziell infizierten und an chronischer NANB-Hepatitis erkrankten Schimpansen zu isolieren. Mit Hilfe von molekularbiologischen Methoden konnte dieselbe Arbeitsgruppe 1989 erstmals Antikörper gegen das Hepatitis C Virus (HCV) nachweisen. Dies ermöglichte die Sicherstellung der Diagnose Hepatitis C bei 90% der NANB-Hepatitis-Kranken. Gleichzeitig entwickelte diese Arbeitsgruppe eine qualitative Nachweismethode für das Hepatitis-C-Virus [64].

### 1.2.2 Epidemiologie

Infektionen durch das Hepatitis-C-Virus haben das Ausmaß einer viralen Pandemie erreicht. Die Prävalenz liegt bei ungefähr 300 Mio. Menschen weltweit [73]. Lebererkrankungen im Endstadium bedingt durch Hepatitis C sind die häufigste Indikation für eine orthotope Lebertransplantation (OLT) [86]. Das Robert-Koch-Institut (RKI) schätzt die Anzahl HCV-positiver Patienten in Europa auf 3-5 Mio., in Deutschland liegt die Prävalenz von HCV-Antikörpern in der Bevölkerung bei 0,4-0,7%. Aufgrund der Chronifizierungstendenz der Hepatitis C bei 60-80% der Patienten, leben derzeit schätzungsweise 400.000-500.000 Virusträger in Deutschland [53]. Im Jahre 2004 wurden insgesamt 8.998 Fälle erstdiagnostizierter Hepatitis C übermittelt, was einer bundesweiten Inzidenz von 10,9 Erstdiagnosen pro 100.000 Einwohner entspricht. Bei 2.438 (37%) erstdiagnostizierten Fällen handelte es sich um Hepatitis-C-Kranke, die intravenösem Drogenabusus nachgehen. Seit 2001 hat die Zahl der erstdiagnostizierten

HCV-Infektionen zugenommen. Problematisch ist, dass die Zahlen nicht die absoluten Infektionen pro Jahr widerspiegeln können, da die Mehrzahl der Neuinfektionen der Hepatitis C asymptomatisch verlaufen (ca. 80%) und die gegenwärtigen Labormethoden eine Unterscheidung zwischen akuter und chronischer Hepatitis C nicht erlauben. Das Hepatitis-C-Virus wird parenteral, perinatal (in 2-6% der Fälle bei HCV-positiver Mutter) oder sporadisch (d.h. ohne erkennbaren Übertragungsweg) übertragen [53, 62]. Hauptrisikofaktoren für die Übertragung der Hepatitis C waren bis 1992 Transfusionen von Blutprodukten. Jedoch konnte durch die Einführung des HCV-Screening bei Blutprodukten mittels Anti-HCV-Test die Übertragung der Hepatitis C auf weniger als 1:100.000 zurückgedrängt werden. Intravenöser Drogenabusus ist mittlerweile für 90% aller Neuinfektionen weltweit verantwortlich [39]. Hämodialysetherapien und sexuelle Kontakte mit häufig wechselnden Geschlechtspartnern stellen weitere Infektionsrisiken dar. In ca. 30% der neu aufgetretenen Infektionen mit Hepatitis C bleibt der Übertragungsweg trotz intensiver Nachforschungen unbekannt [53]. Das Infektionsrisiko durch Stichverletzungen (z.B. im Klinikalltag) mit HCV-kontaminierten Kanülen beträgt ca. 2-3% [102].

### 1.2.3 Hepatitis-C-Virus

Das Hepatitis-C-Virus gehört zur Familie der Flaviviridae aus der Spezies Hepacivirus. Es ist ein lineares, einsträngiges Ribonukleinsäure-(RNA)-Virus mit Plus-Strang-Polarität und ungefähr 9.600 Nukleotiden. Das HCV-Genom wird in einem Nukleokapsid, dem sogenannten Core, verpackt, das von einer Hülle, einer sogenannten Envelope, umschlossen wird. Die HCV-RNA kodiert für ein ca. 3.000 Aminosäuren (AS) großes Polypeptid, das nach der Translation in einzelne HCV-Proteine durch wirtszellspezifische (Spaltung der strukturellen Core- und Envelopeproteine) und virusspezifische (Spaltung der Nicht-Strukturproteine) Proteasen gespalten wird. Die Replikation erfolgt durch die viruskodierte RNA-abhängige RNA-Polymerase. Sie bildet eine intermediäre Minus-Strang-RNA, die wiederum als Matrize für die Synthese neuer Plus-Strang-Desoxyribonukleinsäure (-DNA) dient [53].

Bedingt durch die Replikationsungenauigkeit der HCV-RNA-Polymerase mutiert das Hepatitis-C-Virus schnell und anhaltend. Verglichen mit dem Hepatitis-B-Virus ist die Mutationsrate zehnmals höher, und zeigt deshalb eine ausgeprägte genetische Variabilität. Die Analyse der RNA-Sequenzen führte zur Kategorisierung der Isolate in Genotypen (1, 2, 3...), die aufgrund genetischer Unterschiede wiederum in Subtypen (a,

b, c...) unterteilt werden konnten. Aktuell sind sechs Genotypen und mehr als 100 Subtypen bekannt [53]. Stimmen die Aminosäuresequenzen in weniger als 72% überein, handelt es sich um unterschiedliche Genotypen. Als Subtypen werden Hepatitis-C-Viren definiert, die innerhalb eines Genotyps eine Aminosäuresequenzhomologie von 75-86% aufweisen. Die verschiedenen HCV-Genotypen und -Subtypen zeigen eine unterschiedliche geographische Verteilung [62]. Laut RKI kommen in Europa und den USA überwiegend die Genotypen 1, 2 und 3 vor. In Europa ist der Genotyp 1 am häufigsten vertreten. Der Genotyp 1b macht mit 80% den höchsten Anteil in Deutschland aus. In den USA ist der Typ 1a überrepräsentiert. Der Genotyp 3a kommt vorwiegend bei Patienten mit Drogenkonsum als Infektionsursache vor. HCV-Genotyp und -Subtyp bleiben innerhalb eines Individuums stabil. Allerdings führen Mutationen in den kurzen hypervariablen Regionen (HVR) zur Ausbildung verschiedener, gleichzeitig im Individuum vorkommender Quasi-Spezies mit geringen Unterschieden in ihrer AS-Sequenz. Als Ursache für die Chronifizierung der Hepatitis C werden die ständigen Epitopenwechsel in den hypervariablen Bereichen der Hüllproteine (besonders E2), die einen Immunescapemechanismus darstellen, angenommen [53].

Hauptangriffspunkt des Hepatitis-C-Virus sind die Hepatozyten. Als möglicher zellulärer HCV-Rezeptor wird der Oberflächenmarker Cluster Determinants 81 (CD81) diskutiert, der bei Hepatozyten und B-Lymphozyten expremiert wird. Die Replikationsrate, der sog. „VirusTurn-Over“, ist mit  $10^{12}$  Viruspartikeln pro Tag hoch. Lymphozyten infiltrieren im Verlauf der Infektion das Leberparenchym und repräsentieren die zelluläre Immunantwort des Organismus. Die Ausheilung der Hepatitis C wird durch die virusspezifische Aktivierung von zytotoxischen und T-Helfer-Lymphozyten vermittelt. Diese scheint prädominant zu sein, da der Verlust bzw. eine niedrige Anzahl dieser Zellen mit einer Reaktivierung der Virämie assoziiert ist. Die andauernde Präsenz der Lymphozyten bewirkt eine Schädigung des Leberparenchyms. Die humorale Immunantwort ist gekennzeichnet durch eine Reihe von Antikörpern gegen die Struktur- und Nichtstrukturproteine des Hepatitis-C-Virus. Die Neutralisierung des Hepatitis-C-Virus durch die Antikörper ist unmöglich, weshalb keine bleibende Immunität nach einer ausgeheilten Hepatitis C existiert und eine Reinfektion zu jedem Zeitpunkt wieder möglich ist [53].

## 1.2.4 Klinik und Verlauf

### 1.2.4.1 Akute Hepatitis C

Die akute Virushepatitis ist gekennzeichnet durch eine plötzlich einsetzende Entzündung der Leber, die maximal sechs Monate dauert. In den meisten Fällen einer Hepatitis-C-Infektion gelingt es nicht die Krankheit im akuten Stadium zu identifizieren, weil die meisten Neuinfektionen (80%) asymptomatisch verlaufen [53]. Klinische Symptome können sich innerhalb der Inkubationszeit von sieben bis acht Wochen (maximal zwei bis 26 Wochen) manifestieren und sind charakterisiert durch das Auftreten von Ikterus, Abgeschlagenheit und Übelkeit. Zu diesem Zeitpunkt gelingt bereits der Nachweis von HCV-RNA mittels Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) [62]. Ein meist moderater Anstieg der Transaminasen wird vier bis zwölf Wochen nach Infektion beobachtet. Besonders charakteristisch sind fluktuierende Verläufe. Fulminante Verläufe wurden nur in Einzelfällen beschrieben [47]. Bei 15% der Patienten tritt eine spontane Heilung ein. Diese Patienten weisen keine HCV-RNA in Serum und Leber auf und bilden Antikörper gegen das Hepatitis-C-Virus auf [110].

### 1.2.4.2 Chronische Hepatitis C

Die chronische Virushepatitis stellt ein ätiologisches Syndrom dar, das sich durch einen klinischen Verlauf, der länger als sechs Monaten andauert, und charakteristische histologische Merkmale auszeichnet. Zentrales Problem bei HCV-infizierten Patienten ist die hohe Frequenz der Chronifizierung des Krankheitsprozesses. Die neutralisierende Immunantwort richtet sich gegen die Hauptsequenz des Hepatitis-C-Virus. Bedingt durch die genetische Variabilität entzieht sich das Hepatitis-C-Virus dieser Antwort und kann ungehemmt replizieren und dominant werden. Bei 60-85% der akuten HCV-Infektionen entwickelt sich ein chronischer, in der Regel symptomarmer Verlauf. Im Rahmen der chronischen HCV-Infektion kommt es unter regulären Bedingungen zu einer stetigen aber vergleichsweise langsamen Fibrosierung der Leber [53].

Das Stadium einer Leberzirrhose wird nach mehr als 20 Jahren von etwa 20-30% der chronischen HCV-Patienten erreicht [98]. In 1-4% der Fälle kommt es basierend auf einer Leberzirrhose zur Entwicklung eines hepatozellulären Karzinoms (HCC) [19]. Verschiedene Studien und Untersuchungen haben ergeben, dass eine Reihe von Faktoren eine wichtige Rolle beim Verlauf der chronischen Hepatitis C und ihrer Fibroseprogression einnimmt. Hierzu gehören virale (Viruslast, Genotyp, Quasi-

Spezies), wirtsspezifische (Alter zum Infektionszeitpunkt, Infektionsdauer, Immunstatus, Geschlecht), exogene Faktoren (chronischer Alkoholabusus, Nikotinabusus, medikamenteninduzierte Hepatopathien, Adipositas etc., Koinfektionen (HBV, Humanes-Immundefizienz-Virus (HIV), Zytomegalie-Virus (CMV)), Simultanerkrankungen (hereditäre Hämochromatose (HH)) und Gen-Polymorphismen (Transforming-Growth-Faktor (TGF- $\beta$ ), Tumor-Nekrose-Faktor (TNF- $\alpha$ ), Angiotensinogen (AGT), Myeloperoxidase, mikrosomale Epoxid Hydrolase, Low-Density-Lipoprotein(LDL)-Rezeptor, Apolipoprotein E4) [42, 54].

### **1.3 Lebertransplantation**

In den westlichen Industriestaaten ist das Endstadium der chronischen Hepatitis-C-Infektion mit ihren Komplikationen (Leberzirrhose, HCC) die häufigste Indikation für eine orthotope Lebertransplantation (OLT) [73]. Derzeit werden in Deutschland etwa 600-700 orthotope Lebertransplantationen pro Jahr durchgeführt [36]. Es ist zu erwarten, dass die Anzahl der durch das Hepatitis-C-Virus bedingten Lebertransplantationen in naher Zukunft ansteigen wird [39]. Derzeit warten weltweit mehr als 17.000 Patienten auf eine Lebertransplantation. Nach wie vor besteht ein gravierender Mangel an geeigneten Spenderorganen [21]. Als Alternative zur OLT hat sich die Leberlebendspende mit ca. 100 Eingriffen pro Jahr im Zeitraum 2000 bis 2002 etabliert. Ungefähr 5% aller Lebertransplantationen werden im Rahmen einer Leberlebendspende durchgeführt [113].

#### **1.3.1 Geschichte der Lebertransplantation**

Die erste orthotope Lebertransplantation am Menschen nahm 1963 E. Starzel vor, nachdem er Ende der 50er Jahre zusammen mit F. Moore die ersten klinischen Experimente an Ratten durchgeführt hatte [112, 129]. Bis zu Beginn der 80er Jahre wurden ca. 330 Lebertransplantationen durchgeführt, bei einer 1-Jahres-Überlebensrate (JÜR) von ca. 28% [129]. Die anfänglichen Ergebnisse waren einerseits operationstechnisch begründet, andererseits durch die noch unzureichenden Möglichkeiten der Immunsuppression. Anfang der 80er Jahre gelang durch die Einführung von Cyclosporin A (CsA) die Steigerung der 1-JÜR von ca. 30% auf über 65%. Die Anzahl der akuten Abstoßungen (ACR) konnte von etwa 80% auf 40% reduziert werden [44, 85, 129].

Durch die Einführung neuer Operations-(OP-)Methoden (venöser Bypass mit Piggyback-Pumpe, Seit-zu-Seit-Choledochocholedochostomie) konnte die Inzidenz postoperativer Nierenfunktionsstörungen und das Auftreten von Gallengangskomplikationen deutlich minimiert werden [82, 84, 109].

Aufgrund der Fortschritte in den chirurgischen OP-Methoden, im postoperativen intensivmedizinischen Management, in der Organkonservierung sowie in der Immunsuppression ist die Prognose der OLT deutlich günstiger geworden (1-JÜR: 90%, 5-JÜR: 80%) [40].

### 1.3.2 Immunsuppression nach Lebertransplantation

Die immunsuppressive Therapie erfolgt lebenslang. Ziel der Immunsuppression ist die Ausschaltung von Lymphozyten. Dies wird vorwiegend durch Reduktion der Lymphozytenzahl oder Hemmung der Aktivität reifer Lymphozyten realisiert. Immunsuppressiva lassen sich in zwei Gruppen einteilen. Die Gruppe der aktivierungshemmenden (nicht-zytotoxischen) Immunsuppressiva umfasst Kortikosteroide (Prednisolon), Ciclosporin A (Immunosporin®), Tacrolimus (FK 506, Prograf®), Muromonab-CD3 (Orthoclone OKT3®), chimäre anti-CD4-monoklonale Antikörper, Daclizumab (Immunmodulator BT-563, Zenapax®), Basiliximab (Simulect®) und Sirolimus (Rapamune®). Sie wirken allgemein als Rezeptorantagonisten und hemmen die Bildung von Lymphokinen oder die Aktivierung von T-Lymphozyten. Zur Gruppe der zytotoxischen Immunsuppressiva gehören Mycophenolat Mofetil (MMF, Cell Cept®) und Azathioprin (Imurek®). Sie greifen in die DNA-Synthese der T-Lymphozyten ein und hemmen die zelluläre Immunreaktion [55]. Die Datenlage bezüglich des Einflusses der primären Immunsuppression auf den Verlauf nach Lebertransplantation bei Hepatitis-C-Patienten wird kontrovers diskutiert. Die zellvermittelte Immunität scheint der wichtigste Baustein in der Kontrolle der viralen Aktivität und somit des Verlaufs der Hepatitis C zu sein. Hierbei steht vor allem die direkte T-Zell-Antwort gegen fremdes Major-Histo-Compatibility-(MHC)-Antigen im Mittelpunkt des Geschehens. Bekannt ist, dass Calcineurin-Inhibitoren (CNI) die T-Helfer-Zellen-Funktion beeinträchtigen. Das durch die Immunsuppression resultierende fehlende Gleichgewicht zwischen viralen Faktoren und Immunsystem des Empfängers ist ein Grund, weshalb stark immunsupprimierte Patienten einen aggressiveren Verlauf der Hepatitis C aufweisen [2]. Eine Reihe von Autoren ist der Auffassung, dass die Art der Immunsuppression für den Langzeitverlauf entscheidend ist [40, 43]. Aktuell existiert

keine optimale immunsuppressive Therapie für Patienten mit einer Hepatitis-C-Reinfektion nach Lebertransplantation [4]. Die immunsuppressive Therapie im ersten Monat nach der Lebertransplantation besitzt wesentlichen Einfluss auf die Höhe der Virämie und das Ausmaß der Reinfektion [15]. Es wird angenommen, dass eine starke Immunsuppression mit einer beschleunigten Zirrhoseentwicklung nach Lebertransplantation assoziiert ist [2]. Besonders die Auswirkungen der eingesetzten Kortikosteroide werden kontrovers diskutiert. Eine Studie aus Bologna [20] zeigte, dass die Langzeitbehandlung mit Kortikosteroiden in abnehmenden Dosen vor aggressiven Verläufen der HCV-Reinfektion schützen kann. Andere Autoren empfehlen einen kompletten Verzicht von Kortikosteroiden [4, 59]. Im Rahmen der Therapie von Abstoßungsepisoden mit Kortikosteroiden können sowohl signifikant erhöhte Konzentrationen an HCV-RNA im Serum, als auch eine erhöhte Anzahl von akuten Hepatitiden beobachtet werden [36].

Mycophenolat Mofetil wird zunehmend als Standardimmunsuppressivum nach OLT eingesetzt. Verschiedene Studien konnten nachweisen, dass MMF zur Prophylaxe akuter Abstoßungen einerseits das Auftreten akuter Abstoßungen verzögert, andererseits ihre Inzidenz verringert. Weiterhin wird eine antivirale und antifibrotische Wirkung vermutet. Bahra *et al.* [2] konnten nachweisen, dass es bei Patienten mit Hepatitis-C-Reinfektion unter einer steroidfreien Simultantherapie von MMF in Kombination mit einem CNI zu einer signifikanten Reduktion von Inflammation und Fibroseprogression nach OLT kommt. Dieses Therapieregime erlaubt zusätzlich die Reduzierung der CNI-Dosis und ist nicht mit einem erhöhten Risiko für akute Abstoßungen assoziiert [2].

### 1.3.3 Postoperativer Verlauf nach Lebertransplantation

Die Hepatitis-C-Reinfektion nach orthotoper Lebertransplantation tritt bei chronischen HCV-Patienten universell nach Reperfusion des Transplantates ein [40]. Unmittelbar nach Explantation und Reperfusion sinkt die Viruslast. Im weiteren Verlauf kommt es zur Aufnahme des Hepatitis-C-Virus durch die Hepatozyten des Transplantates. Ungefähr 72 Stunden nach Transplantation erreicht die Viruslast denselben Stand wie vor der OLT [39]. Anschließend erreicht die Viruslast Werte, die bis zu zehnmal höher liegen können als vor der Lebertransplantation [21]. Die zur Immunsuppression eingesetzten Steroide sind mit einem Anstieg der HCV-RNA-Titer assoziiert [36]. Bei 70-90% der HCV-Patienten fallen bereits ein Jahr nach OLT und nach fünf Jahren bei

90-95% der Patienten in den Leberbiopsaten lymphozytäre Infiltrate, periportale Entzündung und Fibrose, variable lobuläre Inflammation und Steatose auf [39].

Die Zeitspanne von der Reinfektion bis zur Zirrhoseentwicklung ist hierbei kürzer als im natürlichen Verlauf der chronischen Hepatitis C. Bei 10-40% der transplantierten HCV-Patienten tritt im Verlauf nach OLT eine schwere Transplantathepatitis auf, die innerhalb von fünf Jahren in das Stadium der Leberzirrhose übergeht [71]. Die Folge ist ein akzeleriertes Leberversagen (> 40% nach einem Jahr, > 60% nach drei Jahren). Der andere Teil der Patienten zeigt nach OLT trotz persistierender HCV-Virämie keine Transplantathepatitis [13]. Die 5-JÜR der Patienten mit chronischer Hepatitis C nach OLT beträgt im Vergleich zu Patienten mit anderen Grunderkrankungen trotz der hohen Rezidivrate 70-80% [40].

Schwere cholestatische verlaufende Transplantatreinfektionen mit konsekutivem Transplantatversagen innerhalb des ersten postoperativen Jahres werden in seltenen Fällen (1-10%) beobachtet. Die cholestatische Hepatitis C ist charakterisiert durch schwergradigen Ikterus, gefolgt von raschem Leberversagen ohne Leberzirrhose. Histologisch lassen sich eine starke Schwellung der Hepatozyten, intrahepatische Cholestase, Gallengangsproliferationen, prominente perizelluläre und portale Fibrose beobachten. Die häufigste Todesursache bei Patienten mit cholestatischer Hepatitis C ist die Sepsis [39].

Retransplantationen werden bei HCV-induziertem Organversagen (10% der Patienten) aufgrund der schlechten Patientenüberlebensraten nur selten durchgeführt [21].

## **1.4 Antivirale Therapie**

Das Ziel der antiviralen Therapie im Rahmen der Hepatitis C ist die komplette Viruseradikation mit anhaltender serologischer Virusfreiheit [63].

Zur Behandlung der chronischen Hepatitis C hat sich die Kombinationstherapie mit Interferon-alpha (IFN $\alpha$ ) und Ribavirin als Standard etabliert. Klinisch eingesetzt werden aktuell drei verschiedene Interferone (Interferon-alpha-2b (IFN $\alpha$ -2b), pegyliertes Interferon-alpha-2a (PegIFN $\alpha$ -2a), pegyliertes Interferon-alpha-2b (PegIFN $\alpha$ -2b)) [3]. Die aktuellen dauerhaften virologischen Ansprechraten liegen bei einer Therapie mit PegIFN $\alpha$  und Ribavirin zwischen 40-90% [65].

Interferone sind Zytokine mit antiviralen, antiproliferativen und immunmodulatorischen Wirkungen [16]. Antiviral wirkt IFN $\alpha$  durch rezeptorvermittelte Aktivierung der

Doppelstrang-RNA-abhängigen Proteinkinase (PKR), mittels verstärkten Abbau von Einzelstrang-RNA, durch die 2',5'-Oligo-Adenylatsynthetase(2',5'-OAS)-vermittelte Stimulation der RNase L und direkte Hemmung der viralen Transkription über Myxoviren-(Mx-)Proteine [16, 106]. Die immunmodulatorische Wirkung geschieht durch vermehrte interferonvermittelte zelluläre Expression von MHC-Klasse-I- und MHC-Klasse-II-Proteinen sowie direkte Stimulation von B-Zellen [106]. Bei pegylierten Interferonen werden Polyethylenglykole (PEG) an rekombinantes Interferon konjugiert. Polyethylenglykole sind nicht-toxische, biologisch inerte Polymere, die einen wesentlichen Einfluss auf die physikalischen Eigenschaften, Pharmakokinetik und -dynamik eines Präparates besitzen. Hierdurch ergibt sich eine Verlängerung der (Eliminations-)Halbwertszeit ( $t_{1/2}$ ) [16, 106].

Ribavirin (1- $\beta$ -D-ribafuranosyl-1,2,4-triazol-3-carboxamid) gehört zur Gruppe der Nukleosidanaloga (Guanosin-Analogen). Als Wirkmechanismen werden die Verstärkung der T-Helfer-Zellen-1-(TH1)-abhängigen Immunantwort, eine Hemmung der Inositolmonophosphat-Dehydrogenase (IMPDH) mit konsekutiver Depletion des zellulären Guanostriphosphat(GTP)-Pools, sowie Hemmung der RNA-abhängigen RNA-Polymerase des Hepatitis-C-Virus bzw. ein verstärkter Fehleinbau von Nukleotiden diskutiert [16, 106].

Die am häufigsten auftretenden unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAWs) unter einer Kombinationstherapie von IFN $\alpha$  und Ribavirin sind Blutbildveränderungen (Leukopenie, insbesondere Neutropenie, Anämie und Thrombozytopenie) und eine osmotische Hämolyse [16, 116].

Derzeit wird der Einfluss der anhaltenden serologischen Virusfreiheit auf den Fibroseverlauf untersucht. Manns *et al.* [73] konnten bei nicht-transplantierten Patienten mithilfe einer Interferon-Therapie eine Abnahme der fibrotischen Aktivität um 20% nach Eradikation darstellen. Bahra *et al.* [3] konnten erst kürzlich ähnliche Ergebnisse für Patienten nach Lebertransplantation aufzeigen. Bei den meisten Patienten, die eine Viruseradikation nach interferonbasierter Therapie aufwiesen, konnte eine Verlangsamung der Fibrose- und Entzündungsprogression nachgewiesen werden [3].

## 1.5 Einflussfaktoren für den Verlauf nach orthotoper Lebertransplantation

Einflussfaktoren, die den Verlauf der HCV-Reinfektion nach OLT beeinflussen werden derzeit diskutiert [23, 27, 35, 57, 63, 87, 101, 103, 130]. Hierbei wurden in Studien die Relevanz von Spender- und Empfängeralter, des Transplantationsjahres, immunologischer Einflussfaktoren (Behandlung akuter zellulärer Rejektionen, Art der Immunsuppression, Humanes Leukozyten-Antigen-(HLA-)Übereinstimmung), virusspezifischer Faktoren (Genotyp, Viruslast vor und nach Transplantation), der Nierenfunktion und von Koinfektionen mit dem Zytomegalie-Virus für den Verlauf nach OLT untersucht [87].

Verglichen mit dem natürlichen Verlauf der Hepatitis C bei immunkompetenten Patienten stellt sich die Progression der Erkrankung beschleunigt dar. U. Neumann *et al.* [87] konnten darstellen, dass sich die Fibroseprogression nach OLT nicht linear verhält. Besonders innerhalb der ersten drei Jahre nach OLT zeigt der Verlauf einen beschleunigten und exponentiellen Anstieg. Signifikante Risikofaktoren für diesen Typ der nicht-linearen Fibroseprogression waren Transplantate von Spendern, die älter als 33 Jahre waren, sowie das Vorliegen der HCV-Genotypen 1 und 4 [87].

Aufgrund der Relevanz des Spenderalters für den Verlauf nach OLT ist ein Ziel der Studie die Untersuchung verschiedener Spenderfaktoren (Qualität des Transplantates, Dauer des Aufenthaltes auf Intensivstation, Katecholamingabe, Todesursache etc.) und ihre Assoziation mit dem klinischen und histologischen Verlauf [15].

Die Rolle verschiedener HLA-II-Allele und Gen-Polymorphismen (HFE, AGT) in Hinsicht ihres Einflusses auf die Entstehung bzw. das Ausbleiben einer persistierenden HCV-Infektion und dem Fibroseverlauf werden kontrovers diskutiert. Polymorphismen finden sich sehr oft in den nicht kodierenden Abschnitten der DNA. Die häufigste genetische Variation beim Menschen ist das Vorkommen von stabilen Substitutionen (SNPs) einer einzelnen Base, die bei 1% der Weltbevölkerung in der Frequenz von 1:1.000-1:2.000 Basenpaare (Bp) vorkommen und durch Restriktionslängenpolymorphismen (RLFP) nachgewiesen werden können [5].

Deshalb wurde im Rahmen dieser Studie der Einfluss von Genpolymorphismen auf den klinischen und histologischen Verlauf untersucht.

### 1.5.1 Einfluss von Eisen auf den Fibroseverlauf

Häufig werden bei Patienten, mit chronischer Hepatitis C erhöhte Eisenkonzentrationen in Serum und Lebergewebe gemessen, die sich auf die Prognose der Fibroseentwicklung und der antiviralen Therapie auswirken sollen. Allerdings sind die zugrundeliegenden Mechanismen unbekannt. Eine Freisetzung von Eisen aus zerstörten Hepatozyten oder ein spezifischer Viruseffekt auf den Eisenstoffwechsel werden diskutiert [5]. Vermutet wird, dass das Hepatitis-C-Virus entweder vorzugsweise in eisenbeladenen Zellen repliziert, oder dass virusbefallene Zellen eine erhöhte Eisenaufnahme verzeichnen. In-vitro konnte nachgewiesen werden, dass Eisen in kultivierten humanen Hepatozyten die HCV-Replikation stimuliert [54].

### 1.5.2 Hämochromatose und Leberfibrose

Die Hämochromatose ist eine angeborene Eisenspeicherkrankheit, die in eine primäre (hereditäre, idiopathische) und in eine sekundäre (erworbene) Form unterteilt werden kann. Charakteristisch sind eine initiale Eisenüberladung des Plasmakompartiments, eine Eisenüberladung der Parenchymzellen und eine unverminderte Erythropoiese. Sie ist die häufigste autosomal-rezessive Erbkrankheit beim Menschen mit einer Prävalenz homozygoter Personen von 1:150-1:400 und heterozygoter Personen von 1:8-1:20 [80]. Sowohl erworbene (Alkoholkonsum, Nahrung) als auch wirtseigene (Alter, Geschlecht, Genetik) Faktoren besitzen Einfluss auf den Phänotyp [70]. Die häufigste Ursache der hereditären Hämochromatose sind autosomal-rezessiv vererbte Mutationen im HFE-Gen [80]. Zahlreiche Studien belegen, dass genetische Polymorphismen des HFE-Gens den Fibroseverlauf bei chronischer HCV-Infektion beeinflussen können [5].

J.N. Feder *et al.* [32] konnten 1996 erstmals zwei Mutanten (C282Y, H63D) des HFE-Gens auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6 identifizieren, die bei 70-98% aller Patienten mit einer hereditären Hämochromatose nachweisbar sind. Hierbei kommt es zu einem Austausch von Cystein (Cys) durch Tyrosin (Tyr) an der Aminosäureposition 282 (C282Y, c.845G > A, Allelfrequenz 4%) und zum Austausch von Histidin (His) durch Asparaginsäure (Asp) an Position 63 (H63D, 187C > G, Allelfrequenz 15%) [80]. Die Mutation C65S (c.193A > T) tritt sehr selten in der Bevölkerung auf. Bei dieser Mutation kommt es zum Austausch von Cystein durch Serin (Ser) an Aminosäureposition 65. Allerdings besitzt sie einen schwachen phänotypischen Effekt und ist nicht eindeutig mit der hereditären Hämochromatose assoziiert [17].

Die am häufigsten vorkommende Form der Hämochromatose resultiert zu 65-95% aus der homozygoten C282Y-Mutation im HFE-Gen [70]. Die Prävalenz für heterozygote Träger der HFE C282Y-Mutation beträgt bei Menschen keltischer Abstammung 10% und ist deutlich niedriger bei Menschen aus Südeuropa [5]. Homozygote H63D-Träger erkranken meist nicht, außer im Falle einer „Compound“-Heterozygotie, bei der eine heterozygote C282Y-Mutation zusammen mit einer heterozygoten H63D-Mutation vorliegt. Hierbei liegt ein gering erhöhtes Krankheitsrisiko (Penetranz < 5%) vor [70].

HFE ist ein MHC-I-ähnliches Protein, das keine Antigen-präsentierenden Eigenschaften besitzt und nicht in der Lage ist Eisen zu binden. Seine Aufgabe besteht in der Interaktion mit  $\beta_2$ -Mikroglobulin, das für die Stabilisation, den Transport und die Expression von HFE auf der Zelloberfläche endosomaler Membranen benötigt wird [89].

Bedingt durch die homozygote Mutation C282Y wird der Transport von HFE zur Zelloberfläche verhindert, indem die Protein-Struktur von HFE und die Wechselwirkung mit  $\beta_2$ -Mikroglobulin verändert werden. Hierbei kann HFE aufgrund des Austausches von Cystein keine Disulfid-Brückenbindung zum  $\beta_2$ -Mikroglobulin ausbilden. Bei der H63D-Mutation wird die Bindung zwischen Transferrin und dem Transferrinrezeptor beeinflusst. Diese Veränderungen suggerieren dem Organismus einen Eisenmangel, was zu einer stark erhöhten intestinalen Eisenresorption (4-5mg/d) führt. Das überschüssige Eisen wird von Parenchymzellen der Leber und anderer Organe (Herz, Pankreas etc.) aufgenommen. In der Leber schreitet die Überladung von periportal nach zentral fort und führt zur Fibrosierung bzw. einer Zirrhosierung der Leber [70, 80].

### 1.5.3 Polymorphismen des Angiotensinogen-Gens und Leberfibrose

Die essentielle Hypertonie ist eine häufige, polygene und komplexe Funktionsstörung. Sie ist einerseits bedingt durch die Interaktion verschiedener Gene untereinander, andererseits durch die Interaktion der Gene mit Umweltfaktoren (Übergewicht, Salzaufnahme, Alkoholkonsum). Die zugrunde liegenden Pathomechanismen sind bisweilen unbekannt. Aufgrund ihrer physiologischen Wirkungsspektren untersuchen aktuelle Studien die kodierenden Gene der Proteine, die den Blutdruck regulieren. Die Gene der Komponenten des Renin-Angiotensinogen-Systems (RAS) werden deshalb als Determinanten der essentiellen Hypertonie intensiv erforscht [77]. Die Komponenten des RAS (Angiotensinogen (AGT), Angiotensin converting enzyme (ACE), Angiotensinogen-Typ-1-Rezeptor (AGTR1), Renin) werden durch hepatische

Sternzellen exprimiert. Hierbei kommt es zur Freisetzung von Angiotensin II, welches neben seiner starken vasokonstriktorischen Eigenschaft durch Induktion der TGF- $\beta_1$ -Produktion die Akkumulation extrazellulärer Matrix stimuliert. Die Fibroseprogression ließ sich in vitro am Tiermodell durch medikamentöse Inhibition mittels ACE-Hemmer-Gabe modulieren [46].

Angiotensinogen ist ein Protein und setzt sich aus 452 Aminosäuren zusammen. Das Gen des Angiotensinogens auf dem Chromosom 1 lokalisiert. Es setzt sich aus fünf Exons und vier Introns mit unterschiedlicher Länge zusammen. Die Messenger-RNA (mRNA) umfasst 2.099 Bp. Die Sequenz des Angiotensinogens wird durch die Exons 2, 3, 4 und kleineren Teilen von 5 kodiert. Bisher sind 20 Polymorphismen des Angiotensinogen-Gens bekannt [69].

Der Einfluss der Polymorphismen (-6G>A, M235T) im AGT-Gen auf die Entwicklung und den Schweregrad chronischer Lebererkrankungen wird derzeit diskutiert. Beim AGT-Polymorphismus -6G>A handelt es sich um eine Nukleotidsubstitution an Position 6 des Promotergens von Angiotensinogen mit Austausch von Adenin (A) gegen Guanin (G). Der M235T-Polymorphismus ist charakterisiert durch einen Austausch der Aminosäure Methionin (Met) gegen Tyrosin an Position 235 der Aminosäure von Angiotensinogen. Erst kürzlich konnte eine signifikante Assoziation des -6G>A Polymorphismus im Angiotensinogen-Gen mit dem Fibrosestadium bei chronischer Hepatitis-C-Infektion nachgewiesen werden [46].

## **1.6 Verlaufsdagnostik bei HCV-Patienten: Leberbiopsie und nicht-invasive Methoden**

Ein schwerwiegendes Problem in der aktuellen Medizin stellt die Evaluation und Behandlung der steigenden Zahl an chronischen Hepatitis-C-Patienten dar [93]. Bei immunkompetenten Patienten gilt die Leberbiopsie als Goldstandard für die Verlaufsbeobachtung chronischer Lebererkrankungen und der Fibrose. Im Rahmen der Lebertransplantation sind das Vorliegen bzw. die Progression der Leberfibrose, die durch die Protokollbiopsien ermittelt werden, essentiell. Dies erlaubt Responderraten, Prognosen und Komplikationen bei Patienten mit HCV-Reinfektion bewerten zu können und verschiedene Behandlungsstrategien einzusetzen [8, 93, 119].

Die Leberbiopsie weist eine Reihe von Nachteilen auf [8, 26]. Die Prozedur ist kostenintensiv und invasiv. Nach der Leberbiopsie klagen ca. 20-30% der Patienten über unangenehme, harmlose, postpunktionelle Beschwerden (Oberbauchschmerz, Schulterschmerz, Atmungsschmerz, Vagusschock), bei 0,3-0,5% treten schwere Komplikationen (Tabelle 1) auf und in bis zu 0,1% der Fälle verläuft der Eingriff letal [26, 60].

**Tabelle 1.** Komplikationen der Leberbiopsie

---

Komplikationen

---

1. Punktion der Gallenblase
  2. Punktion von Nachbarorganen
  3. Hämatom (intrahepatisch, subkapsulär)
  4. Blutung (früh, spät)
  5. Arteriovenöse Fistel
  6. Hämatothorax, Pneumothorax
  7. Infektion (Sepsis, Leberabszess, subphrenischer Abszess)
- 

Kuntz E, 1998 [60]

Abhängig vom Pathologen ist eine variable Interpretation der Biopsate bezüglich des Fibrorestadiums in bis zu 20% berichtet worden [8]. Außerdem wird im klinischen Alltag selten eine ideale Leberbiopsie durchgeführt, welche die Probengewinnung von drei Zylindern (1 x 40 mm und 2 x 20 mm aus dem rechten und linken Lobus) vorsieht [93]. Einige Autoren bemängeln, dass derzeit nur ein Stadium für die Einteilung des Fibrorestadiums 4 (Leberzirrhose), nach semiquantitativen Kriterien existiert [8, 24]. Jedoch fehlen bisweilen Alternativen, um die Leberbiopsie als Goldstandard für die Evaluation der Fibroseprogression abzulösen [119]. Bei Diagnosestellung fehlen bei über 80% der Patienten Zeichen einer Fibrose bzw. liegt bloß eine milde Ausprägung vor [33]. Deshalb ist ein neues, nicht-invasives Verfahren für Patienten und Ärzte wünschenswert, welches die Leberbiopsie in naher Zukunft als Goldstandard für die Evaluation des Fibroseverlaufs ersetzen könnte.

**Tabelle 2.** Anforderungen an einen idealen nicht-invasiven Marker

---

Anforderungen

---

1. hohe Sensitivität
  2. hohe Spezifität
  3. hoher positiver prädiktiver Wert (ppW)
  4. hoher negativer prädiktiver Wert (npW)
  5. gute Verfügbarkeit
  6. gute Reproduzierbarkeit (geringe Variabilität unter den Laboren)
  7. Anwendung bei verschiedenen Ätiologien von Lebererkrankungen
- 

Wai, C.T. *et al.*, 2003 [126]

Hierbei wird der Ansatz verfolgt ein simples Modell, das sicher den Fibroseverlauf vorhersagen kann, auf Basis eines Routinelabors zu entwickeln [119]. Hierzu sind verschiedene Testverfahren, Scores und Indizes (Tabelle 3), die vorwiegend auf Formeln mit Transaminasen (teilweise in Kombination mit anderen Parametern (Tabelle 4)) basieren, entwickelt worden [65, 91].

Bislang konnte keines der nicht-invasiven Verfahren dem Anspruch eines idealen Verfahrens (Tabelle 2) gerecht werden [65, 119]. Die Sensitivität vieler Testverfahren konnte bis zum jetzigen Zeitpunkt keine zufriedenstellenden Werte erreichen [126]. Allerdings sind die Ergebnisse einiger Messverfahren in Kombination mit der histologischen Auswertung des Fibroseverlaufs als vielversprechend einzustufen [8, 119].

**Tabelle 3.** Nicht-invasive Testverfahren zur Evaluation des Fibrorestadiums

Fibrosetest	Formel
AAR	AST/ALT
AP Index	Empfängeralter (Jahre): 0 = < 30; 1 = 30-39; 2 = 40-49; 3 = 50-59; 4 = 60-69; 5 = ≥ 70 Thrombozytenzahl ( $\times 10^9/l$ ): 0 = > 225; 1 = 200-224; 2 = 175-199; 3 = 150-174; 4 = 125-149; 5 = < 125 AP Index: Summe aller beiden Entitäten (0-10)
APR	Albumin/Protein
APRI	$([AST/ULN]/Thrombozytenzahl (\times 10^9/l)) \times 100$
CDS	Thrombozytenzahl ( $\times 10^9/l$ ): 0 = > 340; 1 = 280-339; 2 = 220-279; 3 = 160-219; 4 = 100-159; 5 = 40-99; 6 = < 40 ALT/AST: 0 = > 1,7; 1 = 1,2-1,7; 2 = 0,6-1,19; 3 = < 0,6 INR: 0 = < 1,1; 1 = 1,1-1,4; 2 = > 1,4 CDS: Summe aller 3 Entitäten (0-11)
FI	$8,0-0,01 \times Thrombozytenzahl (10^3/\mu l) - Albumin$
Forns Score	$7,811-3,131 \cdot \ln(Thrombozytenzahl [\times 10^9/l]) + 0,781 \cdot \ln(GGT) + 3,467 \cdot \ln(Alter) - 0,014(Cholesterin)$
Pohl Score	positiv: $AAR \geq 1$ und $Thrombozytenzahl (\times 10^9/l) < 150$

Verschiedene nicht-invasive Scores, Indices und Messverfahren (AST-to-ALT-Ratio (AAR), Age-to-platelet Index (AP Index), Albumin-Protein-Ratio (APR), AST-to-platelets-ratio-index (APRI), Cirrhosis Discriminant Score (CDS), Fibrosis Index (FI)) zur Evaluation des Fibrorestadiums.

Abkürzungserläuterungen: Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST), International Normalized Ratio (INR), Gamma-Glutamyltranspeptidase (GGT), Upper Limit of Normal (ULN).

Bei einigen nicht-invasiven Markern bzw. Scores gelingt die Vorhersage schwerer Fibrose und des Fibrorestadiums 4 sehr gut. Defizite bestehen jedoch weiterhin in der Unterscheidung früher Stadien (z.B. beginnende Septenbildung, signifikante Fibrose (F2)) mittels nicht-invasiver Verfahren [51]. Die Bewertung verschiedener Laborparameter (Transaminasen, Thrombozyten) wird bereits seit einigen Jahren in der Diagnostik von Lebererkrankungen eingesetzt. Bei 25-30% der chronischen Hepatitis-C-Patienten liegen ihre Werte im Referenzbereich, was mit einer verlangsamten Fibroseprogression assoziiert ist [26]. Verschiedene Studien haben eine Assoziation der Thrombozytenzahl mit dem Fibrorestadium beobachten können. Eine Thrombozytopenie wird häufig (20%) bei Patienten mit einem fortgeschrittenen Fibrorestadium (Zirrhose) als Hinweis auf eine Leberfunktionsstörung beobachtet [91, 99, 128].

**Tabelle 4.** Marker zur Beurteilung der Fibroseprogression

Indirekte Marker der Leberfibrose	Direkte Marker der Leberfibrose
Routinelabormarker	Kollagene
Gesamt-Bilirubin (Bili(t))	Prokollagen I C Peptid (PICP)
Aspartataminotransferase	Prokollagen III N Peptid (PIIINP)
Alkalische Phosphatase (AP)	Typ IV Kollagen und Fragmente (NC1, PINVP)
Gamma-Glutamyl-transpeptidase	Glykoproteine und Polysaccharide
Thrombozytenzahl	Hyaluronsäure (HA)
Thromboplastinzeit (TPZ)	Laminin
International Normalized Ratio (INR)	Tenascin
Natrium (Na <sup>+</sup> )	YKL-40 (Chondrex)
Kreatinin (Krea)	Kollagene und ihre Inhibitoren
Weitere assoziierte Marker	Matrix-Metallo-Proteinasen (MMP-1/2)
Cholesterin	Tissue-Inhibitor Metalloproteinasen-1/2 (TIMPs)
Apolipoprotein A <sub>1</sub>	Zytokine
Albumin/Gesamtprotein	Transforming Growth Factor-β <sub>1</sub>
Haptoglobin	Hepatocyte Growth Factor
α <sub>2</sub> -Makroglobulin	Platelet Derived Growth Factor (PDGF)
γ-Globulin	
Empfängerassoziierte Parameter	
Alter	
Geschlecht	
Zeit nach Transplantation	

Direkte und indirekte Marker zur Beurteilung der Fibroseprogression.

Grigorescu, M., 2006 [45]

## 2 Zielsetzung und Fragestellung der Arbeit

Ziel dieser Studie ist die Eruiierung der Faktoren, die den klinischen (Patienten- und Transplantatüberleben) und histologischen (Fibroseprogression) Verlauf nach einer orthotopen Lebertransplantation aufgrund HCV-induzierter Leberzirrhose signifikant beeinflussen und die Entwicklung eines nicht-invasiven Messverfahrens auf der Basis von Routinelaborparametern und trivialer Spender- bzw. Empfängerdaten in Ergänzung zur Leberbiopsie in der Diagnostik des Fibroseverlaufs nach OLT.

Die Relevanz der perioperativ erhobenen spenderassozierten Parameter, der initialen Organfunktion in den ersten fünf Wochen nach der OLT, von Gen-Polymorphismen (HFE, AGT) und virusspezifischer Daten (Genotyp, Viruslast) für den klinischen und histologischen Verlauf werden im Rahmen dieser Studie untersucht. Bei den spenderassozierten Parameter ist zu klären, ob die intraoperativ gewonnene O-Biopsie des Transplantates mit gesonderter Betrachtung des Fibrose-, Inflammations-, Nekrose- und Fettvorkommens, mit dem histologischen Verlauf assoziiert ist. Die Untersuchung der Daten zu den Genpolymorphismen soll zeigen wie hoch die Prävalenz von HCV-Patienten mit Polymorphismen im HFE- bzw. AGT-Gen ist und welche Assoziation mit dem klinischen bzw. histologischen Verlauf besteht.

Zur Entwicklung eines neuen, nicht-invasiven Messverfahrens soll im ersten Schritt die diagnostische Relevanz der aktuell publizierten nicht-invasiven Messverfahren (AAR, AP Index, APR, APRI, CDS, FI, Forns Score, Pohl Score, sowie modifizierter nicht-invasiver Messverfahren (ALT/AST-Ratio (iAAR), age-to-platelet-index bezogen auf das Spenderalter (API(s)), Forns Score bezogen auf das Spenderalter (Forns(s))) überprüft werden. Hierbei ist zu klären inwieweit die nicht-invasiven Messverfahren zur Evaluation des Fibrorestadiums mit dem histologischen Befund der HCV-Patienten im Rahmen der Protokollbiopsie zum 1-Jahres-Zeitpunkt korrelieren. Im zweiten Schritt wird untersucht werden, welche Laborparameter zum 1-, 3- bzw. 5-Jahres-Zeitpunkt eine Assoziation mit dem Fibrorestadium zeigen, um auf der Basis dieser Ergebnisse ein allgemeingültiges nicht-invasives Messverfahren zur Evaluation des Fibrorestadiums zu entwickeln.

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Patienten

Im Zeitraum vom März 1989 bis Januar 2005 wurden an der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum 315 Lebertransplantationen bei 300 Patienten mit HCV-assoziiierter Leberzirrhose vorgenommen. Dabei handelte es sich um 102 (34,0%) weibliche und 198 (66,0%) männliche Patienten. Einschlusskriterien waren das Vorliegen einer Hepatitis-C-Reinfektion, Ausschlusskriterien waren das Vorliegen einer Koinfektion mit dem Hepatitis-B-Virus oder dem Zytomegalievirus.

Ein Jahr nach der Transplantation unterzogen sich 213 der 300 transplantierten Patienten einer Leberbiopsie und wurden im Median für 83,9 Monate (12-211,2) weiterbeobachtet. Die Hauptmerkmale der 300 Patienten sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Bei 10 (32,3%) von 31 (10,3%) Patienten war eine schwere HCV-Reinfektion Ursache für das Versterben des Empfängers im ersten Jahr nach der Transplantation.

**Tabelle 5.** Hauptcharakteristika der 300 Empfänger mit Hepatitis C induziertem Leberversagen und Lebertransplantation

Kriterien	Daten
Gesamtzahl der Transplantationen (n)	315 (100%)
Gesamtzahl der Transplantatempfänger (n)	300 (100%)
Empfängeralter (Jahre)	52 (15-72)
Spenderalter (Jahre)	39 (8-75)
Empfängergeschlecht (n)	
Männlich	198
Weiblich	102
HCV-RNA ( $\times 10^6$ IU/ml) <sup>a</sup>	1.3 (0-19.4)
HCV-Genotyp (1/2/3/4) <sup>b</sup> (n=199)	166/15/12/6
HCV-Genotyp unbekannt (n)	110
Typ der Lebertransplantation (n)	
Orthotope Lebertransplantation	297 (94%,3)
Leberlebendspende	12 (3,8%)
Retransplantation (n)	15 (100%)
1. Retransplantation	14 (93%)
2. Retransplantation	1 (7%)
Jahr der Transplantation (< 1996 vs. > 1996)	142/173
Empfänger mit bekanntem HFE/AGT-Status (n)	147

<sup>a</sup> HCV-RNA wurde bei 63 (21,0%) der 300 Empfänger vor der Transplantation quantitativ ermittelt.

<sup>b</sup> HCV-Genotyp wurde bei 199 (66,3%) der 300 Empfänger vor der Transplantation bestimmt.

### 3.1.1 Subgruppen

Die Patienten wurden grundsätzlich als Kohorte untersucht. Zur Betrachtung bestimmter Parameter wurden die Patienten in Subgruppen unterteilt. Dies betraf die präoperative Evaluation des Transplantates und die Untersuchung von Polymorphismen im HFE- und AGT-Gen bezüglich ihrer Assoziation mit der Fibroseprogression.

#### 3.1.1.1 Präoperative Evaluation des Transplantates

Im Vorfeld wurden zahlreiche spenderassoziierte Parameter erhoben, die eine Beurteilung bezüglich der histologischen Qualität des Transplantates und des pathophysiologischen Zustands des Spenders ermöglichen sollen. Die Qualität wurde in Anlehnung an das Metavirscoring [1, 6] und einem modifizierten histologischen Aktivitätsindex nach Ishak *et al.* [52] anhand von vier Kriterien untersucht: entzündliche Infiltrate, Fibroseentwicklung, Anzahl von Apoptosen und Nekrosen (Tabelle 6).

<b>Tabelle 6.</b> Modifizierter Histologischer Aktivitätsindex nach Ishak <i>et al.</i> [52]: Grading	
Kriterien	Score
A. Periportale oder periseptale Grenzzonenhepatitis (sog. Mottenfraßnekrosen)	
Keine	0
Mild (fokal, wenige Portalfelder)	1
Mild/moderat (fokal, Mehrzahl der Portalfelder)	2
Moderat (kontinuierlich um weniger als 50% der Portalfelder)	3
Schwer (kontinuierlich um über 50% der Portalfelder)	4
B. Konfluente Nekrosen	
Keine	0
Fokal konfluente Nekrosen	1
Zone 3 Nekrosen in einigen Feldern	2
Zone 3 Nekrosen in den meisten Feldern	3
Zone 3 Nekrosen und vereinzelte portal-zentrale Brücken	4
Zone 3 Nekrosen und multiple portal-zentrale Brücken	5
Panazinäre oder multiazinäre Nekrosen	6
C. Fokal kleinherdige lytische Nekrosen, Apoptosen und fokale Entzündungsherde	
Keine	0
Bis 1 Herd pro Gesichtsfeld (10fach Objektiv)	1
Zwei bis vier Herde pro Gesichtsfeld (10fach Objektiv)	2
Fünf bis zehn Herde pro Gesichtsfeld (10fach Objektiv)	3
Mehr als zehn Herde pro Gesichtsfeld (10fach Objektiv)	4
D. Portale Entzündung	
Keine	0
Mild, wenige oder alle Portalfelder	1
Moderat, wenige oder alle Portalfelder	2
Moderat/ausgeprägt, alle Portalfelder	3
Ausgeprägt, alle Portalfelder	4

Nekroinflammatorischer Score mit maximalem Wert von 18 unterteilt nach vier Entitäten.

Der Fettgehalt wurde durch den Pathologen evaluiert und zusätzlich erfasst.

In einem Nachbeobachtungsprotokoll wurden das Alter der Spender, die Liegezeit des Spenders auf der Intensivstation bis zur Explantation des Transplantates, die Gabe von Katecholaminen zur Stabilisierung des Spender, die Todesursache des Spenders, der präoperative Natrium-Wert des Spenders und die histologische Qualität des Transplantates erfasst. Die Daten wurden den Protokollen von Eurotransplant entnommen.

Als Probe diente die im perioperativen Umfeld gewonnene 0-Biopsie der Spenderleber. Diese wurde durch Resektion eines Stückes der Transplantatleber vor Transplantation in den Situs des Empfängers gewonnen und anschließend durch einen erfahrenen Pathologen makro- und mikroskopisch evaluiert. Bei 40facher Vergrößerung erfolgte die lichtmikroskopische Evaluation.

Eingeschlossen wurden 79 Patienten mit vorliegender 0-Biopsie. Das mittlere Alter der 52 (65,8%) Männer und 27 (34,2%) Frauen betrug 52 Jahre (25-72). Die demographischen Daten der Patienten sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

**Tabelle 7.** Charakteristika der 79 Empfänger mit Hepatitis C induziertem Leberversagen und Lebertransplantation und vorhandenen Spenderparametern (0-Biopsie)

Kriterien	Daten
Gesamtzahl der Transplantationen (n)	79 (100%)
Gesamtzahl der Transplantatempfänger (n)	79 (100%)
Empfängeralter (Jahre)	52 (25-72)
Spenderalter (Jahre)	40 (10-75)
Empfängergeschlecht (n)	
Männlich	52 (65,8%)
Weiblich	27 (34,2%)
HCV-RNA (x 10 <sup>6</sup> IU/ml) <sup>a</sup>	2.7 (0-19.4)
HCV-Genotyp (1/2/3/4) <sup>b</sup> (n=55)	41/6/6/2
HCV-Genotyp unbekannt (n)	24
Typ der Lebertransplantation (n)	
Orthotope Lebertransplantation	74 (93,6%)
Kombinierte Leber- und Nierentransplantation	3 (3,8%)
Leberlebendspende	2 (2,6%)
Retransplantation (n)	4 (5,1%)

<sup>a</sup> HCV-RNA wurde bei 17 (21,5%) der 79 Empfänger vor der Transplantation quantitativ ermittelt.

<sup>b</sup> HCV-Genotyp wurde bei 55 (69,6%) der 79 Empfänger vor der Transplantation bestimmt.

Alle Spender wurden bis zur Explantation hämodynamisch stabil gehalten. Bei keinem der Spender kam es im Vorfeld der Transplantation zu Stillständen der Herzaktion bzw.

war eine kardiopulmonale Reanimation notwendig. Protokollbiopsien wurden in diesem Patientenkontinuum zum 1-, 3-, 5-, 7- und 10-Jahreszeitpunkt durchgeführt. Bei allen 79 Patienten waren Protokollbiopsien zum 1-Jahreszeitpunkt erhältlich.

### 3.1.1.2 Patienten mit Polymorphismen im HFE- und AGT-Gen

Im Rahmen der Nachbeobachtungsphase nach der Lebertransplantation erfolgte bei einem Teil der Patienten (n=147; 47,9%) zum 1-Jahreszeitpunkt die Testung auf mögliche Polymorphismen des HFE- und AGT-Gens durch die Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum. Das mittlere Alter der 101 (68,7%) männlichen und 46 (31,3%) weiblichen Patienten betrug 53 Jahre (25-72). Tabelle 8 enthält die demografischen Daten dieser Patientengruppe. Protokollbiopsien wurden zum 1-, 3-, 5-, 7-, 10- und 12-Jahreszeitpunkt durchgeführt. Bei 110 (74,8%) Patienten waren Protokollbiopsien zum 1-Jahreszeitpunkt vorhanden.

**Tabelle 8.** Charakteristika der 147 Empfänger mit Hepatitis C induziertem Leberversagen und Lebertransplantation und vorhandenen Daten zu den Gen-Polymorphismen

Kriterien	Daten
Gesamtzahl der Transplantationen (n)	148(100%)
Gesamtzahl der Transplantatempfänger (n)	147 (100%)
Empfängeralter (Jahre)	53 (25-72)
Spenderalter (Jahre)	39 (8-75)
Empfängergeschlecht (n)	
Männlich	101 (68,7%)
Weiblich	46 (31,3%)
HCV-RNA (x 10 <sup>6</sup> IU/ml) <sup>a</sup>	1.3 (0-19.4)
HCV-Genotyp (1/2/3/4) <sup>b</sup> (n=55)	94/10/4/2
HCV-Genotyp unbekannt (n)	37
Typ der Lebertransplantation (n)	
Orthotope Lebertransplantation	140 (94,6%)
Leberlebendspende	7 (4,7%)
Retransplantation (n)	1 (0,7%)
Ethnische Herkunft	
Deutsch	128 (87,0%)
Türkisch	7 (4,8%)
Andere Kaukasier <sup>c</sup>	10 (6,8%)
Asiatisch	1 (0,7%)
Arabisch	1 (0,7%)

<sup>a</sup> HCV-RNA wurde bei 29 (19,7%) der Empfänger vor der Transplantation quantitativ ermittelt.

<sup>b</sup> HCV-Genotyp wurde bei 110 (74,8%) der Empfänger vor der Transplantation bestimmt.

<sup>c</sup> Kaukasische Patienten stammten aus Italien, Jugoslawien, Rumänien, Russland und Spanien.

Die Genotypisierung der HFE- und AGT-Polymorphismen erfolgte mittels PCR-Amplifikation aus den Blutproben zum 1-Jahreszeitpunkt und anschließender Schmelzkurvenanalyse mit Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer-(FRET)-Sonden am LightCycler (Roche).

Zusätzlich erfolgten Blutentnahmen, in denen zusätzlich zu einem Routinelabor die Parameter Eisen, Ferritin, Transferrin, Pseudocholinesterase und Immunglobuline (IgA, IgG, IgM) bestimmt wurden.

Als demographische Daten wurden erfasst: Spender- und Empfängeralter, Größe, Gewicht, Body-Mass-Index (BMI), Nationalität, ethnische Herkunft, Diabeteserkrankung und Alkoholkonsum.

### **3.2 Diagnostik der HCV-Infektion**

Die Diagnostik der HCV-Infektion erfolgte im Vorfeld der Lebertransplantation serologisch durch Nachweis von anti-HCV-Antikörper (Enzyme Linked Immunosorbent Assay II (ELISA II), Chiron Corp., Emerville, CA) und molekularbiologisch mittels direktem Nachweis HCV-spezifischer RNA im Serum (HCV Amplicor kit; Roche Diagnostic Systems Inc., Branchburg, NJ).

Die Viruslast wurde bei den Patienten im Vorfeld der Lebertransplantation und nach der Transplantation in Abständen von 6, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72 und 84 Monaten erhoben.

Bei 199 (64,4%) Patienten war der HCV-Genotyp bekannt. Präoperativ wurde bei 63 (20,4%) Patienten die Viruslast bestimmt. Zum 1-Jahreszeitpunkt waren bei 133 (43,0%) Patienten Daten zur Viruslast vorhanden.

#### **3.2.1 Serologische Diagnostik**

Die Bestimmung der HCV-Infektion erfolgte mittels Enzym-Immunoassay (ELISA II). Dieser wird bei Verdacht auf eine chronische Hepatitis C als Suchverfahren eingesetzt. Anti-HCV-Antikörper können mit diesem Verfahren sieben bis acht Wochen nach Infektion nachgewiesen werden [53]. Hierbei handelt es sich um einen indirekten Virusnachweis, bei dem virale Proteine durch ihre antigene Eigenschaft eine Antikörperantwort provozieren. Beim Enzym-Immunoassay (EIA) werden virale Partikel oder Proteine durch einen virusspezifischen Antikörper (AK) gebunden, der am Boden einer Mikrotiterplatte fixiert ist. Im nächsten Schritt werden durch Waschen alle Partikel

entfernt, die nicht an den Antikörper binden können. Anschließend wird ein zweiter viiruspezifischer Antikörper hinzugefügt, der kovalent an ein Enzym (Meerrettichperoxidase, Alkalische Phosphatase) gebunden ist. Nach einem zweiten Waschgang wird ein farbloses Substrat auf die Mikrotiterplatte gegeben, welches mit dem Enzym zu einem farbigen Produkt reagiert. Bei vorhandenen Virusantigenen im Serum lässt sich ein Farbumschlag registrieren [97]. Jedoch erlaubt das Ergebnis des Anti-HCV-Tests nicht die Unterscheidung zwischen einer bestehenden Infektion oder Immunität [53]. Die EIAs der ersten Generation weisen Antikörper gegen ein nichtstrukturelles Antigen der NS4-Region nach. Die Sensitivität dieses Verfahrens lag allerdings nur bei 70-80%. Falschpositive Ergebnisse werden häufig bei Patienten mit hohen Immunglobulin(Ig)-Konzentrationen beobachtet. Beim EIA der zweiten Generation richten sich die Antikörper gegen die Nichtstrukturproteine der NS3- und NS4-Region (C33, C100) und das Strukturprotein Core-Antigen (C-22). Im Vergleich zur ersten Generation werden mehr Patienten mit einer HCV-Infektion erkannt (10-20%). Die Werte für die Spezifität liegen höher und das Testergebnis wird bei einer akuten Infektion frühzeitiger positiv. Die EIAs der dritten Generation werden zusätzlich durch rekombinante Proteine der NS5-Region ergänzt. Bedingt durch eine höhere Aktivität des NS3-Antigens wird die Sensitivität verbessert und die falsch positiven Testergebnisse bei Patienten mit einer Autoimmunhepatitis, alkoholischen Zirrhose, primär biliärer Zirrhose oder Drogenabusus deutlich reduziert [53, 132].

### 3.2.2 Molekularbiologische Diagnostik

#### 3.2.2.1 Qualitative Verfahren

Aufgrund der zum Teil geringen Viruskonzentration sind zum direkten Nachweis Hepatitis-C-Virus-spezifischer RNA im Serum bzw. Gewebe sensitive Methoden notwendig. Im Gegensatz zur serologischen Diagnostik ist bei der PCR der Nachweis von HCV-RNA innerhalb der ersten Woche nach einer akuten Infektion möglich [53]. Der Einsatz der Polymerase-Kettenreaktion zur Amplifikation von HCV-komplementärer DNA (cDNA) nach reverser Transkription der HCV-RNA durch PCR ist am weitesten verbreitet. Bei den untersuchten Patienten wurde der standardisierte Test HCV-PCR-Test (Amplicor HCV, Roche Diagnostics) eingesetzt. Die DNA-Polymerase *Thermus thermophilus* kommt in diesem System zum Einsatz, die unter geeigneten Pufferbedingungen sowohl als Reverse Transkriptase als auch als DNA-Polymerase

fungiert. Die Nachweisgrenze liegt zwischen 100 und 1000 Virusäquivalenten (Kopien) pro ml Serum [53]. Auf die Transkription der HCV-RNA in cDNA durch die Reverse Transkriptase folgt die PCR. Diese setzt sich aus mehreren Zyklen zusammen. Ein solcher Zyklus beinhaltet stets einen Denaturierungsschritt, einen Annealingschritt und einen Elongationsschritt. Die Denaturierung bei 90°C gewährleistet, dass sich die doppelsträngige cDNA in zwei Einzelstränge trennt. Im Annealingschritt lagern sich bei etwa 50°C kurze Oligonukleotide (Primer), bestehend aus 15-25 Basen, an den entsprechenden DNA-Abschnitten an. Diese sind komplementär zu den 3'-Enden. Um unspezifische Hybridisierungen zu verhindern, muss die Temperatur auf 60-70°C erhöht werden. Während der Elongation bindet das Enzym *Thermus thermophilus* an die Primer und vervollständigt den DNA-Einzelstrang zu einem Doppelstrang (Syntheserichtung 5' → 3'), welcher der ursprünglichen cDNA exakt gleicht. Somit kommt es pro Zyklus theoretisch zu einer Verdoppelung der cDNA-Menge, was einer exponentiellen Amplifikation entspricht [37].

#### 3.2.2.2 Quantitative Verfahren

Der quantitative HCV-RNA-Nachweis besitzt eine diagnostische Relevanz in der Indikationsstellung und Überwachung der Therapie einer HCV-Infektion. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass der Virämie eine prädiktive Bedeutung bei den dauerhaften Ansprechraten einer IFN $\alpha$ -Therapie im Rahmen der chronischen Hepatitis C zukommt [132]. Die Viruslast wurde mit der Real Time-(RT-)PCR (Amplicor HCV-Monitor, Roche Diagnostics) und dem branched DNA-Hybridisierungsassay (VERSANT HCV-RNA 3.0 Assay bDNA Bayer Diagnostics) ermittelt. Bei der Quantifizierung von PCR-Produkten wird der Ansatz verfolgt, eine Korrelation zwischen gemessener Menge an Reaktionsprodukten der PCR und der ursprünglich eingesetzten Menge an Ausgangsmolekülen zu finden [132]. Hierbei entstehen durch Zugabe von adäquaten Farbstoffen fluoreszierende PCR-Produkte, die eine Bestimmung des viralen cDNA-Gehalts in einem abgelaufenen PCR-Schritt erlauben. Die Einheit der Viruslast bei diesem Verfahren wird in copies (cop)/ml angegeben. Beim branched DNA-Hybridisierungsassay wird im Gegensatz zu den PCR-basierten Nachweisverfahren die HCV-RNA durch mehrere aneinander gekoppelte Hybridisierungsreaktionen detektiert. Einer internationalen Übereinkunft folgend wird die Virusmenge nicht mehr in Kopien sondern in internationalen Units pro ml Serum angegeben [53]. Die Messung der Viruslasten im Rahmen des prä- und

postoperativen Beobachtungszeitraums erfolgte durch drei verschiedene Testverfahren. Dies erforderte die Umrechnung der drei verschiedenen Einheiten in eine Einheit, um die Viruslasten miteinander vergleichen zu können. Mithilfe der Standardumrechnungsfaktoren der immunologischen Laboreinrichtung der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum, erfolgte die Umrechnung der Einheiten Mega-Äquivalente (MEq)/ml und cop/ml in IU. Hierbei wurden die Virusäquivalente pro ml Serum mit dem Faktor 0,2 multipliziert. Die Viruslast in Kopien pro ml wurde durch den Faktor 5 dividiert.

### 3.2.3 HCV-Typisierungsverfahren

Sowohl für die Diagnostik als auch für die Ansprechraten auf IFN $\alpha$  ist eine Unterscheidung des HCV in Genotypen und Subtypen sinnvoll. Die Sequenzierung der HCV-Isolate entspricht dem derzeitigen Goldstandard der HCV-Genotypisierung. Verschiedene kommerzielle Typisierungssysteme werden angeboten, die Nukleotidsequenzinformationen aus der 5'-nichtcodierten Region oder dem Core-Gen verwenden. Die HCV-Genotypisierung erfolgte mittels reversem Hybridisierungsassay (Inno-LiPA II, Inno-Genetics N.V., Zwijndrecht, Antwerpen, Belgium). Bei dieser Methode wird HCV-RNA extrahiert und revers transkribiert. Der Test dient zur Bestimmung der HCV-Genotypen HCV-1 bis HCV-6. Die Spezifität zur Differenzierung von HCV-1a und HCV-1b liegt bei ca. 90%. Eine Unterscheidung zwischen den Subtypen HCV-2a und HCV-2c ist allerdings nicht möglich [132].

## 3.3 Operationstechniken

Die Spenderorgane wurden mit der sogenannten University-of-Wisconsin-Lösung aufbewahrt. Die Operation wurde entweder als orthotope Lebertransplantation oder als Leberteiltransplantation durchgeführt. Die Lebertransplantation wurde standardisiert mit Anastomosen der Vena cava inferior kranial und kaudal, Arteria hepatica und Vena portae (End-zu-End) durchgeführt. Die Gallengangs-anatomisierung erfolgte über eine End-zu-Seit Choledocho-Choledochostomie mit T-Draineinlage [83, 84].

## 3.4 Postoperative Nachsorge

Im Anschluss an die Lebertransplantation wurden die Patienten für fünf bis zehn Tage intensivmedizinisch betreut und nach komplikationsfreiem Verlauf auf die periphere

Station verlegt. Einen Monat nach Transplantation erfolgte die Entlassung der Patienten aus dem Krankenhaus, sofern keine gravierenden Beschwerden in diesem Zeitraum auftraten. Die Transplantatempfänger wurden daraufhin in die Nachsorge entlassen, mit Untersuchungen im Abstand von drei, sechs, und zwölf Monaten. Anschließend erfolgten diese Untersuchungen im 1-Jahresrhythmus. Die Nachbeobachtung der Patienten schloss Parameter ein, die in der Zeit nach Lebertransplantation den klinischen und histologischen Verlauf der Patienten, sowie die Funktion und den Zustand des Transplantates erfassen sollten. Hierzu diente die Messung der initialen Organfunktion, Erfassung der Routinelaborparameter zum 1-Jahres-, 3-Jahres- und 5-Jahreszeitpunkt, Durchführung histologischer Untersuchungen der Protokollleberbiopsien und Überwachung der HCV-Infektion (Viruslast, Genotyp).

#### 3.4.1 Initiale Organfunktion

Die Laborparameter mit einer Aussagekraft in Hinsicht auf die initiale Organfunktion nach OLT wurden postoperativ auf der Intensivstation und nach der Verlegung auf der peripheren Station erhoben. Zur Erfassung dieser Parameter wurde ein Nachbeobachtungsprotokoll genutzt. Aus den Kurvenblättern wurden die Spitzenwerte der Transaminasen ALT und AST, der Cholestaseparameter AP und GGT, des mitochondrialen Leberenzym GIDH, der zellulären Bestandteile des Blutes Leukozyten und Thrombozyten und der Blutfarbstoffe Hämoglobin (Hb) und Bilirubin (gesamt) ermittelt und in das Protokoll eingetragen. Zusätzlich erfolgte die Messung des Galleflusses in ml über die T-Drainage im Ductus Choledochus. Die Spitzenwerte wurden über einen Zeitraum von vier bis fünf Wochen einmal wöchentlich bestimmt.

#### 3.4.2 Laborparameter zum 1-Jahreszeitpunkt

Im Rahmen der postoperativen Routineuntersuchung zum 1-Jahreszeitpunkt erfolgte die Bestimmung von 25 Laborparametern mittels Routinelaborentnahmen: Albumin, AP, Bilirubin (gesamt), Cholesterin, Triglyceride, GGT, GIDH, Blutzucker, AST, ALT, Harnstoff, Hb, Kreatinin, Leukozyten, Proteine (gesamt), TPZ und Thrombozyten. Auf der Basis der einzelnen Laborparameter und demographischen Daten wurden 14 nicht-invasive Indices mit jeweils zwei bis vier Variablen berechnet. Hierbei handelte es sich um acht klassische nicht-invasive Indices bzw. Scoreverfahren (AAR, API, APR, APRI, CDS, FI, Forns Score, Pohl Score) und vier modifizierte (Austausch der Variable

Empfängeralter durch das Spenderalter) bzw. neue nicht-invasive Indices bzw. Scoreverfahren (iAAR, API(s), Forns(s), Donor-age-related-fibrosis-index (DARFI)).

Laborparameter zum 1-Jahreszeitpunkt waren bei 225 (75,0%) Patienten vorhanden.

### 3.4.3 Laborparameter zum 3-Jahreszeitpunkt

Neben der klinischen Untersuchung und der Leberbiopsie wurde zum 3-Jahreszeitpunkt eine Routinelabor durchgeführt. Von den bestimmten Parametern wurden sechs Routinelaborparameter als putative nicht-invasive Prädiktoren für den Fibrosestatus gesondert betrachtet: AST, ALT, AP, GGT, Thrombozyten und die TPZ. Auf Basis des Routinelabors wurden fünf klassische nicht-invasive Indices bzw. Scoreverfahren (AAR, API, APRI, CDS, Pohl Score) und drei modifizierte bzw. neue nicht-invasive Indices bzw. Scoreverfahren (iAAR, API(s), DARFI) berechnet.

Laborparameter zum 3-Jahreszeitpunkt waren bei 224 (74,7%) Patienten vorhanden.

### 3.4.4 Laborparameter zum 5-Jahreszeitpunkt

Zum 5-Jahreszeitpunkt wurden bei den Patienten sechs Routinelaborparameter bestimmt: AST, ALT, AP, GGT, Thrombozyten und die TPZ. Diese Laborparameter wurden auf ihre Aussagekraft als nicht-invasive Prädiktoren für den Fibrosestatus zum 5-Jahreszeitpunkt untersucht. Auf Basis des Routinelabors wurden fünf klassische nicht-invasive Indices bzw. Scoreverfahren (AAR, API, APRI, CDS, Pohl Score) und drei modifizierte bzw. neue nicht-invasive Indices bzw. Scoreverfahren (iAAR, API(s), DARFI) berechnet.

Laborparameter zum 5-Jahreszeitpunkt waren bei 174 (58,0%) Patienten vorhanden.

## 3.5 Immunsuppression und Abstoßungsreaktionen

Die Standard-Immunsuppression bestand aus einem Cyclosporin A-basierten oder aus einem Tacrolimus-basierten Regime. Die CsA-basierten Regime setzten sich bei einer Dreifach-Immunsuppression aus CsA, Azathioprin (AZA) bzw. Mycophenolat Mofetil und Kortikosteroiden zusammen. Bei einer Vierer-Immunsuppression kamen zusätzlich Anti-Lymphozyten-Präparate (ATG, Fresenius Bad Homburg, Deutschland) oder monoklonale Anti-Interleukin-2-Rezeptor-Antikörper zum Einsatz. Die Tacrolimus-(Tac-)gestützten Regime kamen in Form einer Doppel-Immunsuppression (Tac, Corticosteroide), Dreifach-Immunsuppression (Tac, AZA/MMF, Kortikosteroide) oder

Vierer-Immunsuppression (zusätzlich mit ATG) zum Einsatz. Mithilfe des sogenannten Banff-Abstoßungs-Index und Leberbiopsien konnten akute Abstoßungsreaktionen bei steigenden Transaminasen, vermindertem Gallenabflusse, Fieber und klinischer Verschlechterung des Allgemeinzustandes (AZ) bestätigt werden. Akute Abstoßungsreaktionen wurden initial über drei Tage mit 500 mg Methylprednisolon behandelt. Bei Steroidresistenz erfolgte der Einsatz von monoklonalem Anti-CD3-Antikörper (OKT3, Orthoclone®, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) 5 mg täglich über fünf bis sieben Tage.

Auf den Einsatz von OKT3 wurde seit 1992 sofern möglich verzichtet, da die Gabe antilymphozytärer Antikörper mit frühzeitigeren und schwereren Hepatitis-C-Reinfektionen assoziiert ist [87].

### **3.6 Histologische Untersuchung der Leberbiopsien**

Im Rahmen der Lebertransplantation erfolgten intraoperativ eine 0-Biopsie des Transplantates und eine Biopsie am 7. Tag nach dem Eingriff. Protokollbiopsien wurden 1, 3, 5, 7, 10, 12 und 15 Jahre nach der OLT vorgenommen. Schloß sich eine antivirale Therapie mit Interferon bzw. eine immunsuppressive Therapie mit MMF an, erfolgte vor Einleitung dieser Maßnahme eine Leberbiopsie. Traten Leberdysfunktionen oder steigende Transaminasen auf, wurde eine zusätzliche Leberbiopsie durchgeführt.

Sämtliche Biopsien wurden in Paraffin eingebettet und mit Hämatoxylin-Eosin, Masson-Goldner, Eisen und Perjodsäure-Schiff-Reaktion angefärbt.

Alle histologischen Ergebnisse wurden durch zwei erfahrene Pathologen untersucht. Der klinische Status war beiden Pathologen unbekannt. Allerdings besaßen sie Kenntnis über den Zustand nach Lebertransplantation aufgrund einer Lebererkrankung im Endstadium bedingt durch das HCV.

Alle Biopsien wurden unter Zuhilfenahme eines semiquantitativen Scores nach der METAVIR-Gruppe hinsichtlich ihres Grades an Entzündung und Fibrose beurteilt. Die 0-Biopsie wurde zusätzlich in Anlehnung an den Score nach Ishak *et al.* [52] im Hinblick auf Nekrose und Apoptose gesondert evaluiert. Das Ausmaß der Fibrose wurde mit einer Skala von null bis vier charakterisiert (0 = keine Fibrose; 1 = milde; 2 = moderat ohne Septenbildung; 3 = moderat mit Septenbildung; 4 = Zirrhose). Bei der milden Fibrose kommt es zu einer Bindegewebsfaservermehrung in den Portalfeldern ohne Infiltration des Parenchyms. Die moderate Fibrose ohne Septenbildung weist deutlich

verbreiterte Portalfelder allerdings bilden die Bindegewebsfasern in diesem Stadium noch keine kompletten Septen. Das Parenchym ist wie bei der milden Fibrose ohne Bindegewebsfasern. Komplette Septen durchziehen im Rahmen der moderaten Fibrose mit Septenbildung die verbreiterten Portalfelder. Die Zirrhose ist gekennzeichnet durch das Auftreten von diffuser Bindegewebsvermehrung, nodulärer Parenchymregeneration in unterschiedlicher Ausprägung und Aufhebung und Umbau der Läppchenstruktur im Bereich der gesamten Leber [61]. Die entzündliche Aktivität wurde anhand einer Skala von null bis drei beschrieben (0 = keine; 0,5 = minimale; 1 = milde; 2 = mäßiggradige; 3 = schwere). Charakteristika der minimalen chronischen Hepatitis sind das Auftreten lymphozytärer Infiltrate in den Portalfeldern, von Einzelnekrosen und das Vorliegen intakter Grenzlamellen. Bei der milden chronischen Hepatitis lassen sich lymphozytäre Infiltrate und Verbreiterungen der Portalfelder gehäuft nachweisen. Innerhalb der Läppchen werden einzelne Zellnekrosen mit lymphozytärer Begleitreaktion sichtbar. Einzelne sogenannte Mottenfraßnekrosen sind uncharakteristisch für dieses Stadium und werden selten beobachtet. Die mäßiggradige chronische Hepatitis weist in den Läppchen ein Vorkommen dichter lymphozytärer Infiltrate, vermehrter Apoptose und entzündliche Einzelzelluntergänge auf. Gruppennekrosen können zu in diesem Stadium ausgebildet sein. Zahlreiche Mottenfraßnekrosen mit Zerstörung der Grenzlamelle sind in der Regel vorhanden. Dichte lymphozytäre Infiltrate kommen in den Portalfeldern vor. Mehrfach werden dabei Lymphfollikel und entzündliche Veränderungen der Gallengänge beobachtet. Eine erhöhte Aktivität der von-Kupffer'schen-Sternzellen ist ebenfalls nachweisbar. Im Rahmen der schweren chronischen Hepatitis finden sich zudem Brückennekrosen, die zu einem Kollaps des Gitterfasengerüsts (Retikulin) führen und narbige passive Septen induzieren. Eine läppchengerechte Regeneration wird somit verhindert und der Verlauf schreitet schnell fort [29].

Protokollbiopsien zum 1-Jahreszeitpunkt waren bei 213 (71,0%), zum 3-Jahreszeitpunkt bei 152 (50,6%), zum 5-Jahreszeitpunkt bei 107 (35,7%), zum 7-Jahreszeitpunkt bei 65 (21,7%), zum 10-Jahreszeitpunkt bei 34 (11,3%), zum 12-Jahreszeitpunkt bei 11 (3,7%) und zum 15-Jahreszeitpunkt bei einem (0,3%) Patienten vorhanden.

### **3.7 Statistische Analysen**

Alle Patientendaten wurden in einer prospektiven Datenbank (Microsoft Access 2.0, Microsoft Corporation, USA) erfasst. Registriert wurden spenderspezifische (Alter,

Geschlecht, Organqualität, Zeit auf Intensivstation, Katecholamingabe, Todesursache, Serum-Natrium), empfängerspezifische (Alter, Geschlecht, Transplantationsjahr, Transplantationsmethode, Initialfunktion nach OLT, Anzahl akuter Abstoßungsreaktionen, Anzahl der Re-Transplantationen, Patientenüberleben, Transplantatüberleben, Polymorphismen des HFE- und AGT-Gens, ethnische Herkunft, Komorbidität) virusspezifische (Virustyp, Viruslast (vor und nach OLT) und krankheitsverlaufsspezifische Parameter (Progression von Inflammation und Fibrose nach OLT, Laborwerte (ein, drei und fünf Jahre nach OLT), Staging anhand nicht-invasiver Messverfahren). Die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS für Windows 13.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). Die Ergebnisse wurden als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung bei einem Signifikanzniveau von  $p \leq 0,05$  angegeben.

Mithilfe des Chi-Quadrat( $\chi^2$ )-Test wurde die Relation zweier qualitativer Größen auf ihre Unabhängigkeit untersucht. Zur Prüfung des Unterschiedes einer quantitativen Variablen innerhalb der Klassen einer qualitativen Größe wurde der Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test eingesetzt. Die Regressionsanalyse diente der Untersuchung der Risikofaktoren für den letalen Ausgang, das Auftreten einer HCV-Reinfektion und mit welcher Wahrscheinlichkeit die Risikofaktoren für die Entwicklung einer Reinfektionshepatitis verantwortlich sind. Für einfache Kreuztabellen wurde der Fisher's-exact-test und für höher dimensionierte (2x3) Tabellen der Chi-Quadrat( $\chi^2$ )-Test genutzt. Die Berechnung des kumulativen Überlebens erfolgte mit der Kaplan-Meier Methode und der Cox-Regressionsanalyse.

Die statistische Analyse zu den klassischen und den modifizierten bzw. neuen nicht-invasiven Messverfahren erfolgte mittels logistischer Regressionsanalysen und Receiver Operating Characteristic-(ROC-)Kurven. Die Endpunkte dieser Studie waren die Identifizierung einer höhergradigen Fibrose sowie einer Leberzirrhose mit einer Kombination klinisch relevanter Laborparameter zum Zeitpunkt der Protokollleberbiopsien in der Patientennachbeobachtungsphase. Die meisten dieser Variablen sind in verschiedenen Studien als potentielle Prädiktoren für das Vorliegen bzw. Fehlen von Fibrose beschrieben worden [45, 65]: Alter (Spender und Empfänger), Geschlecht, Virusgenotyp, Viruslast, AP, ALT, AST, GGT, Bilirubin; Cholesterin, Albumin, Leukozyten, Thrombozyten und die TPZ.

Hierbei erfolgte die Einteilung der Patienten in Gruppen, basierend auf dem Schweregrad der histologischen Läsion. Das Ziel war die Identifizierung der Patienten

mit einer höhergradigen Fibrose (F3 und F4) gegenüber Patienten ohne eine höhergradige Fibrose (F0, F1 und F2). Im zweiten Analyseschritt wurden die Patienten in eine gesonderte Gruppe eingeteilt, bei denen zum Zeitpunkt der Leberbiopsie das Stadium der Leberzirrhose (F4) vorlag.

Auf Basis der Ergebnisse der ROC-Kurven der Parameter Spenderalter, virusspezifischer Faktoren (Virusstyp und Viruslast), sowie der Laborparameter zum 1-Jahreszeitpunkt erfolgte die Konstruktion von einem neuen, prädiktiven, nicht-invasiven Messverfahren (DARFI). Eine höhergradige Fibrose bzw. Leberzirrhose wurde als positives Ergebnis und eine fehlende höhergradige Fibrose bzw. Leberzirrhose als negatives Ergebnis festgelegt.

Der diagnostische Wert der verschiedenen Routinelaborparameter zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten, der neuen und der klassischen bzw. modifizierten nicht-invasiven Messverfahren wurde durch Bestimmung der Ebene unter der ROC-Kurve bestimmt. Die Ebene unter der Kurve (AUC) mit einem Wert von 1.0 bezeichnet den idealen Test, während 0.5 keinen diagnostischen Wert besitzt. Zur Bestimmung der Genauigkeit der neuen nicht-invasiven Messverfahren wurden Sensitivität, Spezifität, positiv und negativ prädiktiver Wert berechnet, wobei eine höhergradige Fibrose oder Zirrhose als Krankheit angenommen wurde.

Die prädiktive Genauigkeit der neuen nicht-invasiven Messverfahren wurde zum 3- und 5-Jahreszeitpunkt validiert.

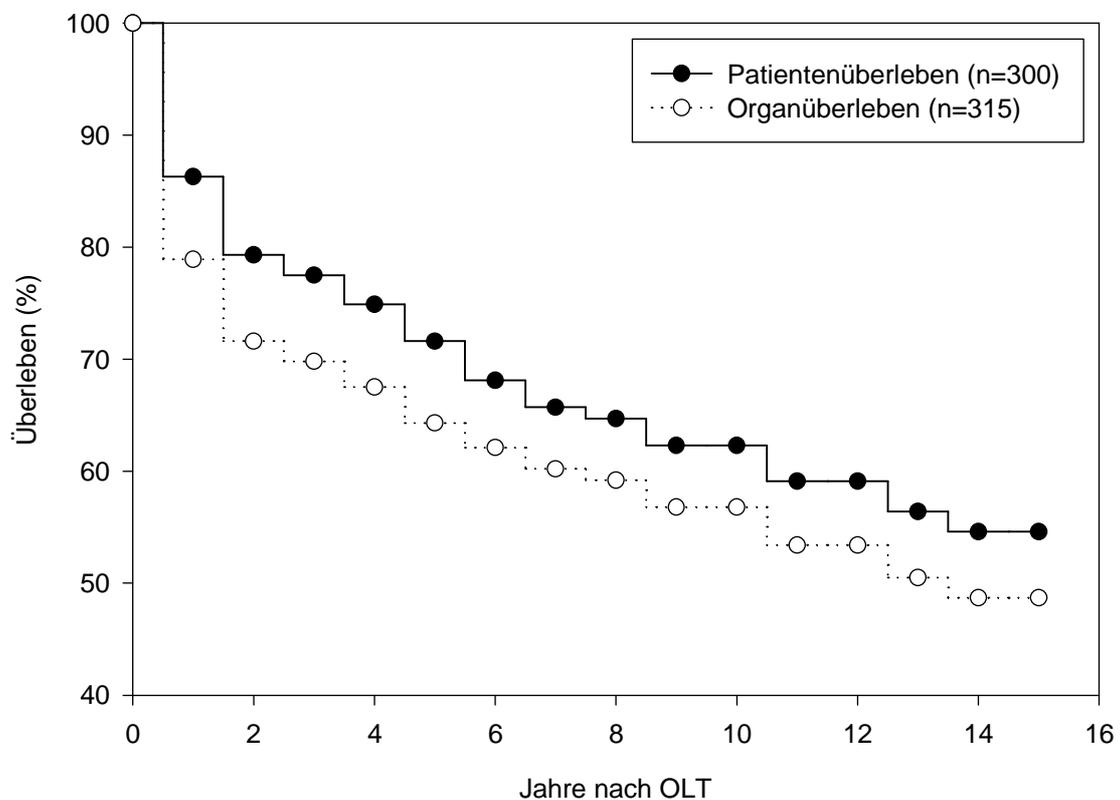
## 4 Ergebnisse

### 4.1 Patienten- und Transplantatüberleben

#### 4.1.1 Überlebensraten

Bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes (März 1989 bis Januar 2005) verstarben von 300 Patienten, bei denen 315 Lebertransplantationen durchgeführt wurden, insgesamt 120 Patienten (40,0%). Die kumulative Überlebensrate lag bei 60,0%.

Innerhalb des ersten Jahres nach OLT verstarben 39 (13,0%) der 300 Empfänger. Die 3-Jahres-Gesamtüberlebensrate im Patientenkollektiv betrug 77,5%, nach 5 Jahren 71,6%, nach 10 Jahren 62,3%, und 54,6% nach 15 Jahren. Die folgende Abbildung (Abb. 1) repräsentiert die graphischen Patienten- und Transplantatüberlebensraten.



**Abb. 1:** Patienten- und Transplantatüberleben nach OLT

Ein fulminanter Verlauf der HCV-Reinfektion war die häufigste Todesursache nach OLT in der Patientenkohorte (36/96, 37,5%). Bei 10 (8,3%) der 120 verstorbenen Patienten konnte die Todesursache nicht ermittelt werden, aufgrund der Tatsache, dass sich ein Teil des Patientenkollektives im Ausland nicht nachbeobachten ließ. Tabelle 9 gibt die Todesursachen wieder.

**Tabelle 9.** Todesursachen nach OLT

Patienten verstorben (n=120)	n	%
Transplantatversagen bei HCV-Reinfektion	34	28,3
Transplantatversagen bei Rezidivtumor (HCC)	22	18,3
Multiorganversagen	9	7,5
De-novo-Malignom	8	6,7
Blutung	8	6,7
Sepsis	7	5,8
Kardiovaskuläre Dekompensation	6	5,0
Pneumonie	4	3,3
Myokardinfarkt	4	3,3
Darmschämie	2	1,7
Endokarditis	1	0,8
Status Asthmaticus	1	0,8
HCC-Neoplasie	1	0,8
Trauma	1	0,8
Hypoxischer Hirnschaden	1	0,8
Nierenversagen	1	0,8
Unbekannt	10	8,3

Innerhalb des ersten Jahres kam es bei 60 Patienten zu einem Transplantatversagen (18,1%). Die Überlebensrate der transplantierten Organe betrug 69,8% nach 3 Jahren, 64,3% nach 5 Jahren, 56,8% nach 10 Jahren und 48,7% nach 15 Jahren.

Insgesamt war ein HCV-Rezidiv die häufigste Todesursache der Patienten in der Nachbeobachtungsphase.

#### 4.1.2 Retransplantationen

Bis zum Ende des Nachbeobachtungszeitraumes war bei 26 von 300 primär transplantierten Patienten (4,0%) eine Retransplantation notwendig. Innerhalb des Nachbeobachtungszeitraumes verstarben 18 (69,2%) der 26 retransplantierten Patienten.

#### 4.1.3 Mit dem Patienten- und Transplantatüberleben assoziierte Faktoren in univariater und multivariater Analyse

Verschiedene Spender- und Empfängerparameter wurden hinsichtlich ihres Einflusses auf das Patienten- und Transplantatüberleben nach OLT untersucht. Insgesamt wurden 87 Parameter evaluiert.

Als Spendervariablen wurden Alter, Geschlecht, Spenderhistologie, Todesursache, Dauer des Aufenthaltes auf der Intensivstation und Katecholaminpflichtigkeit definiert. Von diesen wurden aufgrund der fehlenden Daten bezüglich der Spenderhistologie bei 221 (73.6%) Patienten nur das Spenderalter und –geschlecht für die gesamte Patientenkohorte auf ihre Rolle im Patienten- und Transplantatüberleben hin untersucht. Als Empfängervariablen wurden Alter, Geschlecht, Retransplantationen, akute Abstoßungsreaktionen, HCV-Genotyp, HCV-Virämie vor der Transplantation und im postoperativen Verlauf sowie die initiale Organfunktion in den ersten fünf Wochen nach OLT evaluiert.

Die in der univariaten Analyse ermittelten, signifikant mit einem reduzierten Patientenüberleben und Transplantatüberleben korrelierenden Variablen ( $p < 0,05$ ) sind in Tabelle 10 erfasst.

Keine signifikante Korrelation mit einem reduzierten Patientenüberleben zeigten das Spendergeschlecht, die Empfängervariablen Geschlecht, Körpergewicht, Körpergröße und BMI, anamnestisch bekannter Alkoholabusus nach OLT, Diabetes mellitus, die Viruslast zu den Zeitpunkten vor, 18, 24, 36, 48, 60, 72 und 84 Monate nach OLT, der HCV-Genotyp (1,4 vs. 2,3), stattgefundene akute Abstoßungsreaktionen, Gesamtbilirubin eine Woche, AST in den postoperativen Wochen 1, 2, 3 und 5, ALT in den Wochen 1, 2, 3, 4 und 5, AST/ALT-Ratio in den Wochen 1, 2, 4 und 5, ALT/AST-Ratio in den Wochen 1, 2, 4 und 5, GIDH in den Wochen 1, 2, 3, 4 und 5, GGT in den Wochen 1, 2 und 3, AP in den Wochen 1, 2, 3 und 4, Leukozyten in den Wochen 1, 2, 3 und 4, Hämoglobin in den Wochen 1, 2, 3, 4 und 5, Thrombozyten in den Wochen 1, 2, 3, 4 und 5 und der Gallefluss in den Wochen 2, 3, 4 und 5 nach OLT.

Keine signifikante Korrelation mit einem erhöhten Transplantatversagen in der univariaten Analyse zeigten das Spendergeschlecht, die Empfängervariablen Alter, Geschlecht, Körpergewicht, Körpergröße und BMI, anamnestisch bekannter Alkoholabusus nach OLT, Diabetes mellitus, die Viruslast zu den Zeitpunkten vor, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72 und 84 Monate nach OLT, der HCV-Genotyp (1,4 vs. 2,3), stattgefundene akute Abstoßungsreaktionen, AST in den Wochen 1 und 5, ALT in den Wochen 1, 2 und 5, AST/ALT-Ratio in den Wochen 1, 2, 4- und 5, ALT/AST-Ratio in den Wochen 1, 2, 4 und 5, GIDH in den Wochen 1, 3 und 5, GGT in den Wochen 1, 2 und 3, AP in den Wochen 1, 2, 3 und 4, Leukozyten in den Wochen 1, 2, 3 und 4,

Hämoglobin in den Wochen 1, 2, 3, 4 und 5, Thrombozyten in den Wochen 1, 2, 3, 4 und 5 und der Gallenfluss in den Wochen 2, 3, 4 und 5 nach OLT.

**Tabelle 10.** p-Werte für Variablen, die signifikant mit dem Patienten- und Transplantatüberleben nach Lebertransplantation bei chronischer Hepatitis C korrelieren, in der univariaten Analyse.

Parameter	p-Wert (Patientenüberleben)	p-Wert (Transplantatversagen)
Spendervariablen		
Alter (> 34 vs. < 34 Jahre) <sup>a</sup>	0.01*	0.000*
Empfängervariablen		
Alter (> 49 vs. < 49 Jahre) <sup>b</sup>	0.043*	nicht signifikant (n.s.)
Viruslast (HCV-RNA (x 10 <sup>6</sup> IU/ml))		
3 Monate	0.003*	0.006*
6 Monate	0.011*	0.013*
12 Monate	0.012*	n.s.
Initialfunktion in den Wochen 1 – 5 nach OLT		
Gesamtbilirubin (1) <sup>c</sup>	n.s.	0.022*
Gesamtbilirubin (2) <sup>c</sup>	0.027*	0.002*
Gesamtbilirubin (3) <sup>c</sup>	0.005*	0.000*
Gesamtbilirubin (4) <sup>c</sup>	0.003*	0.001*
Gesamtbilirubin (5) <sup>c</sup>	0.020*	0.013*
AST (2) <sup>c</sup>	n.s.	0.012*
AST (3) <sup>c</sup>	n.s.	0.003*
AST (4) <sup>c</sup>	0.013*	0.002*
ALT (3) <sup>c</sup>	n.s.	0.015*
ALT (4) <sup>c</sup>	n.s.	0.005*
AST/ALT-Ratio (3) <sup>c</sup>	0.027*	0.018*
ALT/AST-Ratio (3) <sup>c</sup>	0.006*	0.010*
GIDH (2) <sup>c</sup>	n.s.	0.043*
GIDH (4) <sup>c</sup>	n.s.	0.009*
GGT (4) <sup>c</sup>	0.047*	0.038*
GGT (5) <sup>c</sup>	0.007*	0.003*
AP (5) <sup>c</sup>	0.013*	0.015*
Leukozyten (5) <sup>c</sup>	0.022*	0.034*
Gallefluss (1) <sup>c</sup>	0.023*	0.005*

<sup>a</sup> Spenderalter ermittelt durch ROC-Analysen.

<sup>b</sup> Empfängeralter ermittelt durch ROC-Analysen.

<sup>c</sup> Laborparameter zur Beurteilung der Initialfunktion in den ersten fünf Wochen nach OLT. In Klammern befindet sich die jeweilige Wocheangabe.

\* Signifikant mit dem Patienten- und Transplantatüberleben korrelierende Variablen (p<0.05).

Alle in die retrospektive Cox Multivarianz-Analyse eingeschlossenen Parameter wiesen in der vorab durchgeführten univariaten Analyse ein Signifikanzniveau p<0.1 auf. Für die Parameter Spenderalter > 34 Jahre, Empfängeralter > 49 Jahre Viruslast drei, sechs und zwölf Monate nach OLT, AP vier und fünf Wochen nach OLT, Bilirubin zwei, drei, vier und fünf Wochen, AST vier Wochen, ALT drei und vier Wochen, GGT vier und fünf Wochen, AP vier und fünf Wochen, Hämoglobin vier Wochen, Leukozyten fünf Wochen,

Thrombozyten fünf Wochen, AST/ALT-Ratio drei und fünf Wochen, AST/ALT-Ratio drei und vier Wochen und der Gallefluss eine Woche nach OLT wurde die multivariate Analyse bezüglich einer möglichen Assoziation mit einer signifikant erhöhten Sterblichkeit der Patienten durchgeführt. Hierbei ergab sich ausschließlich für die in Tabelle 11 dargestellten Variablen eine Korrelation mit einer signifikant erhöhten Sterblichkeit der Patienten.

Die Variablen mit einem Signifikanzniveau  $p < 0.1$  (Spenderalter > 34 Jahre, Viruslast drei, sechs und zwölf Monate nach OLT, Bilirubin zu allen Wochenzeitpunkten nach OLT, AST eine, zwei, drei und vier Wochen, ALT drei und vier Wochen, AST/ALT-Ratio zwei und drei Wochen, ALT/AST-Ratio drei und vier Wochen, AP vier und fünf Wochen, GIDH zwei, drei und vier Wochen, GGT vier und fünf Wochen, Leukozyten drei und fünf Wochen, Thrombozyten zwei und fünf Wochen, Hämoglobin vier Wochen und der Gallefluss eine und drei Wochen nach OLT wurden ebenfalls in einer retrospektiven Cox Multivarianzanalyse untersucht, wobei alleine die in Tabelle 11 aufgeführten Variablen signifikant mit einem verminderten Transplantatüberleben korrelierten.

**Tabelle 11.** p-Werte für Variablen, die signifikant mit dem Patienten- und Transplantatüberleben nach Lebertransplantation bei chronischer Hepatitis C korrelieren, in der multivariaten Analyse.

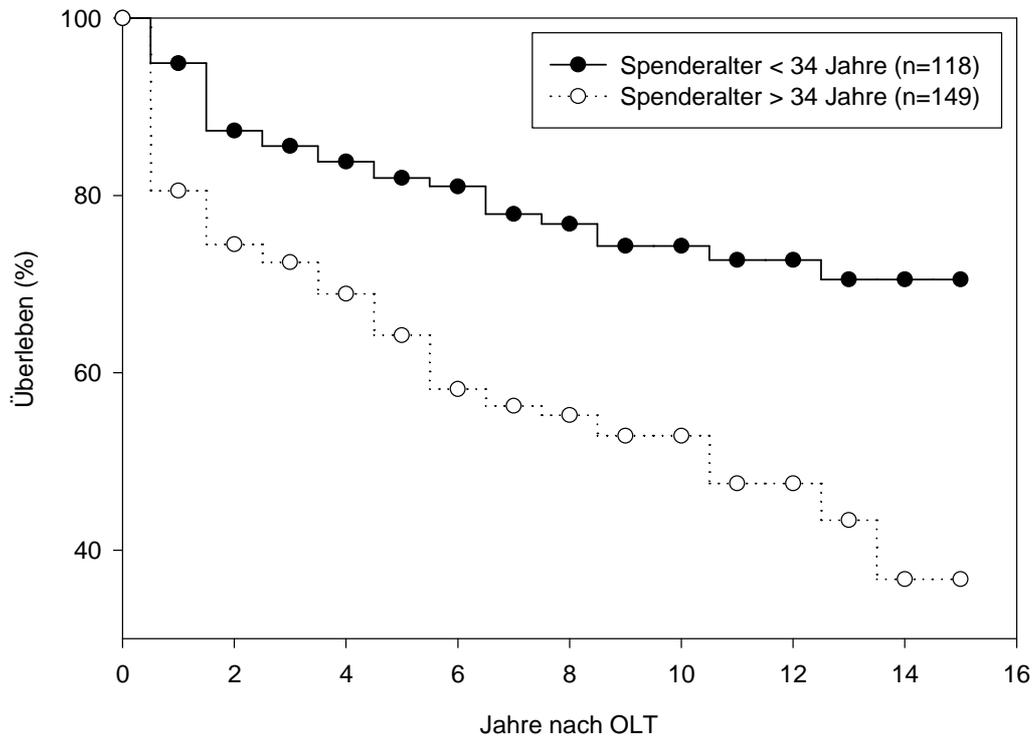
Parameter	p-Wert (Patientenüberleben)	p-Wert (Transplantatversagen)
Spendervariablen		
Alter (> 34 vs. < 34 Jahre) <sup>a</sup>	0.021*	0.006*
Initialfunktion in den Wochen 1 – 5 nach OLT		
Gesamtbilirubin (3) <sup>c</sup>	0.006*	0.032*
Gesamtbilirubin (4) <sup>c</sup>	0.000*	0.000*
Gesamtbilirubin (5) <sup>c</sup>	n.s.	0.007*
AST (2) <sup>c</sup>	n.s.	0.006*
AST/ALT-Ratio (2) <sup>c</sup>	n.s.	0.001*
GGT (4) <sup>c</sup>	0.005*	0.003*
GGT (5) <sup>c</sup>	n.s.	0.008*
AP (4) <sup>c</sup>	n.s.	0.033*
Leukozyten (5) <sup>c</sup>	0.008*	0.031*
Thrombozyten (5) <sup>c</sup>	0.034*	n.s.
Gallefluss (1) <sup>c</sup>	n.s.	0.002*

<sup>a</sup> Spenderalter ermittelt durch ROC-Analysen.

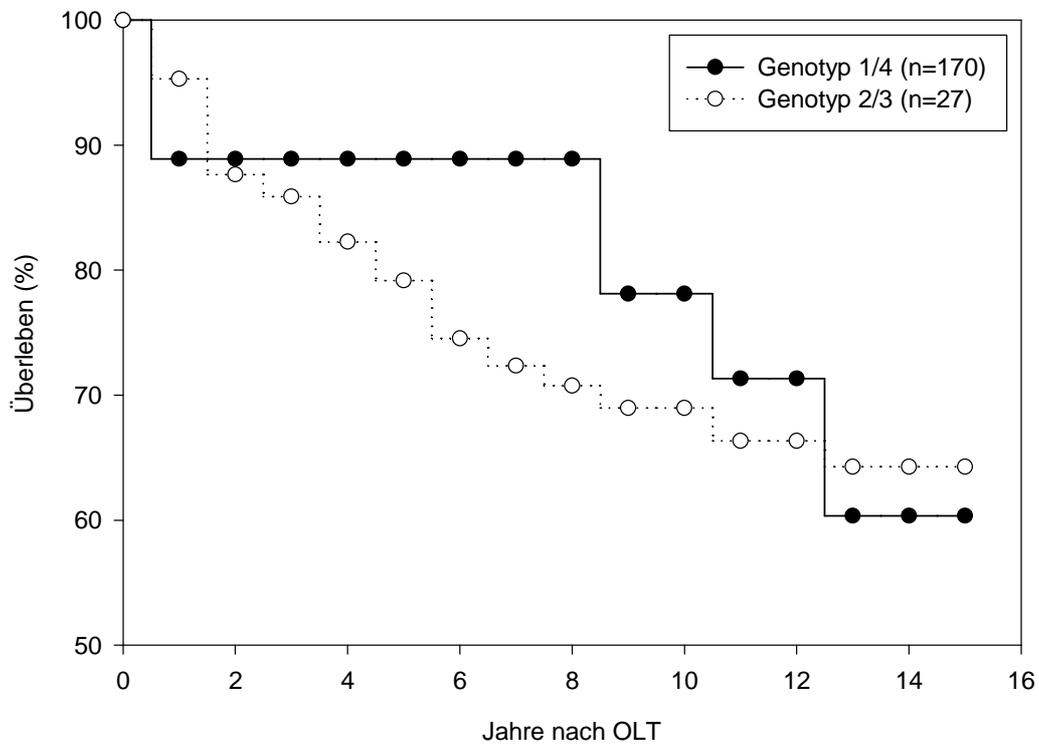
<sup>b</sup> Laborparameter zur Beurteilung der Initialfunktion in den ersten fünf Wochen nach OLT. In Klammern befindet sich die jeweilige Wocheangabe.

\* Signifikant mit dem Patienten- und Transplantatüberleben korrelierende Variablen ( $p < 0.05$ ).

Die Abbildungen 2 und 3 stellen das Patientenüberleben in Abhängigkeit vom Spenderalter und vom Virustyp dar.



**Abb. 2:** Patientenüberleben in Abhängigkeit vom Spenderalter



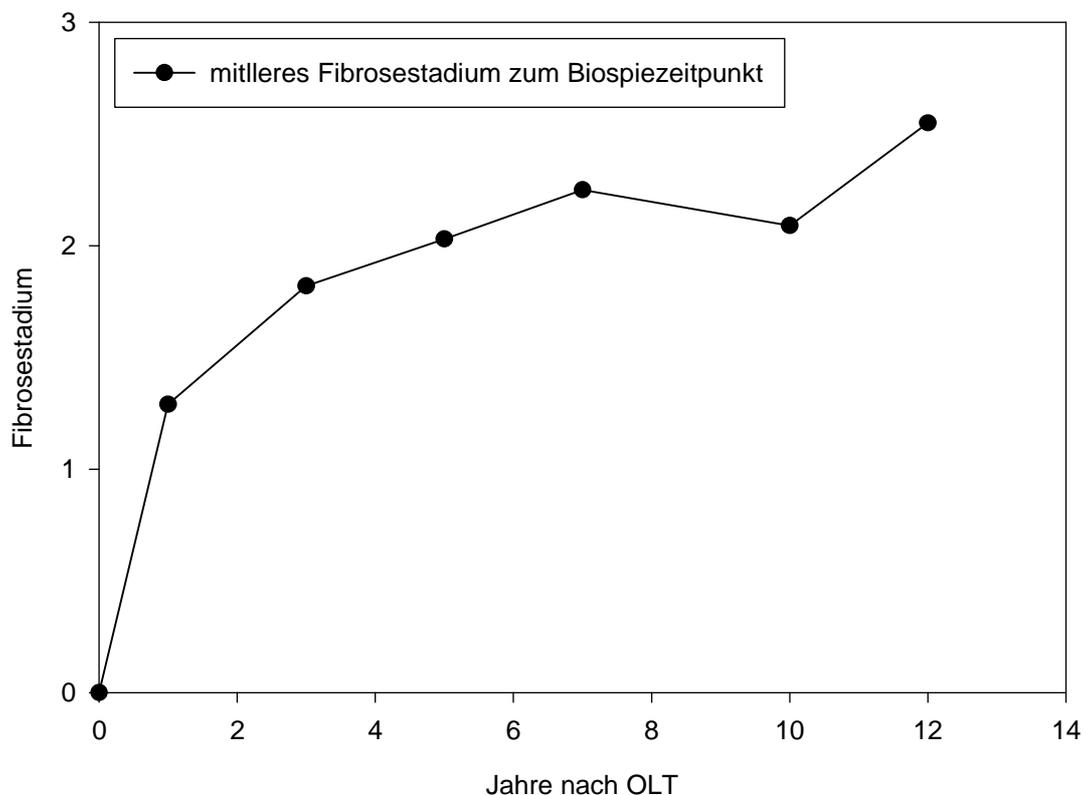
**Abb. 3:** Patientenüberleben in Abhängigkeit vom Virusgenotyp

Die Untersuchung spenderassoziierter Parameter erfolgte anhand einer eigenen Subgruppe (4.2). Zusätzlich erfolgte die isolierte Bewertung genetischer und geographischer Faktoren in Form einer eigenen Subgruppe (4.3).

## 4.2 Der histologische Verlauf

### 4.2.1 Fibroseentwicklung nach Lebertransplantation

Die durch Protokollleberbiopsien ermittelte Fibroseprogression zeigte einen nicht-linearen Verlauf. Das mittlere Fibrorestadium der überlebenden Transplantatempfänger betrug 1.29 (0-4) nach einem Jahr, 1.82 (0-4) nach drei Jahren, 2.03 (0-4) nach fünf Jahren, 2.25 (0-4) nach sieben Jahren, 2.09 (0-4) nach zehn Jahren und 2.55 (1-3) nach zwölf Jahren (Abb.4). Die jährliche Fibroseprogressionsrate betrug somit 1.29 innerhalb des ersten Jahres, 0.27 zwischen dem ersten und dem dritten Jahr, 0.11 zwischen dem dritten und dem fünften Jahr, 0.11 zwischen dem fünften und dem siebten Jahr, -0.08 zwischen dem siebten und dem zehnten Jahr, 0.23 zwischen dem zehnten und dem zwölften Jahr.



**Abb. 4:** Fibroseverlauf nach OLT ermittelt durch Protokollleberbiopsien

#### 4.2.2 Mit dem Fortschreiten der Fibrose assoziierte Faktoren

Die Bestimmung der Faktoren, die putativ mit der Entwicklung der HCV-induzierten Fibrose einhergehen erfolgte mittels univariater und multivariater Analyse. Hierbei wurden die Daten der Patienten ohne eine höhergradige Fibrose (F0 – F2, n = 171, 98, 58) mit denen der Patienten mit einer höhergradigen Fibrose (F3, F4, n = 42, 54, 49) zum Zeitpunkt ein, drei und fünf Jahre nach OLT verglichen. In einem weiterführenden Schritt erfolgte der Vergleich der Daten der Patienten ohne eine Leberzirrhose (F0 – F3, n = 203, 143, 95) mit denen der Patienten mit einer Leberzirrhose (F4, n = 10, 9, 12) zum Zeitpunkt ein, drei und fünf Jahre nach OLT. Die verschiedenen Fibrotestadien sämtlicher Leberbiopsien zum 1-, 3- und 5-Jahreszeitpunkt nach OLT sind in Tabelle 12 erfasst.

**Tabelle 12.** Verteilung der verschiedenen Fibrotestadien ein, drei und fünf Jahre nach OLT.

Stadium	Erstes Jahr	Drittes Jahr	Fünftes Jahr
Keine Fibrose (F0)	70 (32,9%)	29 (19,1%)	19 (17,8%)
Portale Fibrose (F1)	63 (29,6%)	32 (21,1%)	20 (18,7%)
Wenig Septen (F2)	38 (17,8%)	37 (24,3%)	19 (17,8%)
Viele Septen (F3)	32 (15,0%)	45 (29,6%)	37 (34,6%)
Leberzirrhose (F4)	10 (4,7%)	9 (5,9%)	12 (11,2%)
Signifikante Fibrose (F2 – F4)	80 (37,6%)	91 (59,9%)	68 (63,6%)
Höhergradige Fibrose (F3, F4)	42 (19,7%)	54 (35,5%)	49 (45,8%)

Zu keinem Zeitpunkt zeigten die Variablen Transplantationsart (Ersttransplantation bzw. Retransplantation), Transplantationsjahr, Virustyp, Spender- und Empfänger-geschlecht, Empfängeralter, Nationalität, ethnische Herkunft, Körpergewicht, BMI, Körpergröße, Triglyceride, die Immunglobuline A, G, und M, Alkoholabusus, Blutzucker, Diabetes mellitus, Leukozyten, GGT, GIDH, ALT, Gesamtproteine, Harnstoff, Kreatinin eine signifikante Korrelation mit dem Vorliegen einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) und einer Leberzirrhose (F4) zu den Zeitpunkten ein, drei und fünf Jahre nach OLT.

Signifikant mit der Entwicklung einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) und einer Leberzirrhose (F4) innerhalb der Jahre eins, drei und fünf nach OLT korrelierende Variablen und ihre p-Werten univariater Analyse, sind in den Tabellen 13, 14 und 15 angegeben.

**Tabelle 13.** p-Werte für Variablen, die signifikant mit der Entwicklung einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) und einer Leberzirrhose (F4) ein Jahr nach Lebertransplantation bei chronischer Hepatitis C korrelieren, in der univariaten Analyse.

Parameter	F3, F4	F4
Spenderalter <sup>a</sup>	0.001* (> 44y)	0.026* (> 39y)
Akute Abstoßungsreaktionen (ja vs. nein)	n.s.	0.045*
Viruslast (HCV-RNA (x 10 <sup>6</sup> IU/ml))		
3 Monate	0.024*	n.s.
12 Monate	n.s.	0.042*
Initialfunktion in den Wochen 1 – 5 nach OLT		
GGT (2) <sup>b</sup>	n.s.	0.031*
GGT (3) <sup>b</sup>	n.s.	0.028*
GGT (4) <sup>b</sup>	n.s.	0.003*
GGT (5) <sup>b</sup>	0.019*	0.003*
ALT (2) <sup>b</sup>	n.s.	0.031*
Laborparameter zum 1-Jahreszeitpunkt		
Albumin	0.003*	0.047*
Albumin/Protein-Ratio	0.034*	n.s.
AP	0.000*	0.014*
Gesamtbilirubin	0.001*	0.002*
AST	0.000*	0.002*
Cholesterin	0.032*	n.s.
Hb	0.007*	n.s.
Thrombozyten	n.s.	0.032*
ALT/AST-Ratio	0.000*	0.019*
AST/ALT-Ratio	0.001*	0.042*
TPZ	0.000*	0.000*

<sup>y</sup> Alter in Jahren.

<sup>a</sup> Spenderalter ermittelt durch ROC-Analysen.

<sup>b</sup> Laborparameter zur Beurteilung der Initialfunktion in den ersten fünf Wochen nach OLT. In Klammern befindet sich die jeweilige Wocheangabe.

\* Signifikant mit der Fibroseprogression korrelierende Variablen (p<0.05).

Von den untersuchten Laborparametern hinsichtlich der Initialfunktion nach OLT konnte für Gesamtbilirubin, AST, AST/ALT-Ratio, ALT/AST-Ratio, GIDH, AP, Hb, Leukozyten, Thrombozyten und der Gallefluss zu allen 5-Wochenzeitpunkten nach OLT, keine statistisch signifikante Korrelation mit der Entwicklung einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) und einer Leberzirrhose (F4) ein Jahr nach OLT nachgewiesen werden.

Die Viruslast vor, 24, 36, 48, 60, 72 und 84 Monate nach OLT korrelierten zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikant mit dem Auftreten einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) und einer Leberzirrhose (F4).

**Tabelle 14.** p-Werte für Variablen, die signifikant mit der Entwicklung einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) und einer Leberzirrhose (F4) drei Jahre nach Lebertransplantation bei chronischer Hepatitis C korrelieren, in der univariaten Analyse.

Parameter	F3, F4	F4
Spenderalter <sup>a</sup>	0.003* (> 34y)	0.027* (> 44y)
Laborparameter zum 3-Jahreszeitpunkt		
Thrombozyten	0.008*	0.002*
ALT/AST-Ratio	n.s.	0.042*
AST/ALT-Ratio	n.s.	0.019*
TPZ	n.s.	0.001*

y Alter in Jahren.

<sup>a</sup> Spenderalter ermittelt durch ROC-Analysen.

\* Signifikant mit der Fibroseprogression korrelierende Variablen ( $p < 0.05$ ).

**Tabelle 15.** p-Werte für Variablen, die signifikant mit der Entwicklung einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) und einer Leberzirrhose (F4) fünf Jahre nach Lebertransplantation bei chronischer Hepatitis C korrelieren, in der univariaten Analyse.

Parameter	F3, F4	F4
Spenderalter <sup>a</sup>	0.034* (> 34y)	0.031* (> 34y)
Laborparameter zum 5-Jahreszeitpunkt		
AP	0.046*	n.s.
Thrombozyten	0.005*	0.028*
ALT/AST-Ratio	0.010*	0.023*
AST/ALT-Ratio	0.019*	n.s.
Hb	0.023*	n.s.
TPZ	0.045*	n.s.

y Alter in Jahren.

<sup>a</sup> Spenderalter ermittelt durch ROC-Analysen.

\* Signifikant mit der Fibroseprogression korrelierende Variablen ( $p < 0.05$ ).

Alle in die multivariate Analyse eingeschlossenen Parameter wiesen in der vorab durchgeführten univariaten Analyse ein Signifikanzniveau  $p < 0.1$  auf.

Die in der multivariaten Analyse mit den verschiedenen Fibrorestadien assoziierten Variablen zu den Zeitpunkten ein, drei und fünf Jahre nach OLT sind in Tabelle 16, 17 und 18 repräsentiert.

Im ersten Schritt erfolgte die Untersuchung der Variablen, die mit den verschiedenen Fibrorestadien zum 1-Jahreszeitpunkt assoziiert waren.

Bezüglich des Auftretens einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) ein Jahr nach OLT wurden die Variablen Auftreten akuter Abstoßungsreaktionen, Spenderalter (> 34 Jahre), Viruslast drei Monate nach OLT, Gesamtbilirubin in der OLT, GGT in den Wochen 4 und 5 nach OLT, Albumin, APR, AP, Gesamtbilirubin, Cholesterin, GGT, Hb, Thrombozyten, AST/ALT-Ratio, ALT/AST-Ratio, AST, ALT und TPZ sowie Diabetes als

Komorbidität überprüft. Die Variablen Auftreten akuter Abstoßungsreaktionen, Spenderalter (> 34 Jahre), Viruslast zwölf Monate nach OLT, ALT in den Wochen 2 und 3, GGT in den Wochen 3, 4 und 5, AP in der Woche 4, Leukozyten in den Wochen 4 und 5 nach OLT, IgM, Albumin, AP, Gesamtbilirubin, Cholesterin, Harnstoff, Leukozyten, Thrombozyten, AST/ALT-Ratio, ALT/AST-Ratio, AST und TPZ wurden auf ihre Assoziation mit dem Vorkommen einer Leberzirrhose (F4) untersucht.

**Tabelle 16.** p-Werte für Variablen, die signifikant mit der Entwicklung einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) und einer Leberzirrhose (F4) ein Jahr nach Lebertransplantation bei chronischer Hepatitis C korrelieren, in der multivariaten Analyse.

Parameter	F3, F4	F4
Akute Abstoßungsreaktionen (ja vs. nein)	n.s.	0.046*
Gesamtbilirubin (1) <sup>a</sup>	0.035*	n.s

<sup>a</sup> Laborparameter zur Beurteilung der Initialfunktion in den ersten fünf Wochen nach OLT. In Klammern befindet sich die jeweilige Wocheangabe.

\* Signifikant mit der Fibroseprogression korrelierende Variablen ( $p < 0.05$ ).

In einem weiteren Schritt erfolgte die multivariate Analyse zum 3-Jahreszeitpunkt nach OLT. Dabei wurden die Variablen Spenderalter (> 34 Jahre) und Thrombozyten auf eine Assoziation für das Auftreten einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) untersucht. Als mögliche Risikofaktoren für das Auftreten einer Leberzirrhose (F4) wurden die Variablen Spenderalter (> 34 Jahre), AST/ALT-Ratio und ALT/AST-Ratio, Thrombozyten und TPZ überprüft.

**Tabelle 17.** p-Werte für Variablen, die signifikant mit der Entwicklung einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) und einer Leberzirrhose (F4) drei Jahre nach Lebertransplantation bei chronischer Hepatitis C korrelieren, in der multivariaten Analyse.

Parameter	F3, F4	F4
Spenderalter <sup>a</sup>	0.018* (> 34y)	n.s
Thrombozyten <sup>b</sup>	0.025*	0.047*

<sup>y</sup> Alter in Jahren.

<sup>a</sup> Spenderalter ermittelt durch ROC-Analysen.

<sup>b</sup> Laborparameter zum 3-Jahreszeitpunkt.

\* Signifikant mit der Fibroseprogression korrelierende Variablen ( $p < 0.05$ ).

Im letzten Schritt erfolgte die multivariate Analyse zum 5-Jahreszeitpunkt nach OLT. Hinsichtlich des Vorliegens einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) wurden die Variablen Spenderalter (> 34 Jahre), AST/ALT-Ratio, ALT/AST-Ratio, AP, Hb, Thrombozyten und TPZ untersucht. Eine mögliche Assoziation der Parameter mit einer Leberzirrhose (F4)

erfolgte mittels Untersuchung der Variablen Spenderalter (> 34 Jahre), AST/ALT-Ratio, ALT/AST-Ratio, AP, AST, und Thrombozyten.

**Tabelle 18.** p-Werte für Variablen, die signifikant mit der Entwicklung einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) und einer Leberzirrhose (F4) fünf Jahre nach Lebertransplantation bei chronischer Hepatitis C korrelieren, in der multivariaten Analyse.

Parameter	F3, F4	F4
Thrombozyten <sup>a</sup>	0.036*	n.s

<sup>a</sup> Laborparameter zum 5-Jahreszeitpunkt.

\* Signifikant mit der Fibroseprogression korrelierende Variablen (p<0.05).

#### 4.2.3 Fibroseprädiktion mittels nicht-invasiver Messverfahren

##### 4.2.3.1 Prädiktives Modell (Donor-age-related-fibrosis-index, DARFI) mit AUCs und „Cut-off“-Werten

Die aus der Patientenkohorte in den Jahren 1, 3 und 5 nach OLT erhobenen biochemische Parameter, die mit der Entwicklung der verschiedenen Fibrosestadien (F3 - F4, F4) assoziiert waren, wurden mit dem Spenderalter kombiniert. Daraus entstanden 13 verschiedene prädiktive Modelle eines nicht-invasiven Scores. Das optimale multivariable Modell besaß die größte AUC ermittelt durch eine ROC-Analyse. Dieses Modell (DARFI) bestand aus den Variablen TPZ, AP AST, und dem Spenderalter (Tabelle 19).

**Tabelle 19.** Donor-age-related-fibrosis-index (DARFI): Nicht-invasiver Score zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) und einer Leberzirrhose (F4).

Prädiktor	Level	Punkte
Spenderalter	< 33 Jahre	1
	> 33 Jahre	2
Serum AST Level	< 25 U/l	1
	> 25 U/l und < 50 U/l	2
	> 50 U/l	3
Serum AP Level	< 150 U/l	1
	> 150 U/l und < 250 U/l	2
	> 250 U/l	3
Serum TPZ Level	> 100%	1
	< 100%	2

Maximaler Score beträgt insgesamt 10, minimaler Score insgesamt 4.

Die individuell berechnete AUC für den DARFI betrug 0.834 (CI 0.769-0.887) für die Prädiktion einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) und 0.953 (CI 0.909-0.980) für die Prädiktion einer Leberzirrhose (F4) ein Jahr nach OLT. In Tabelle 20 sind die für den DARFI individuell berechneten AUCs, „Cut-off“-Werte, p-Werte, Konfidenzintervalle, die

Sensitivität, die Spezifität, den npW und den ppW für die Prädiktion einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) und einer Leberzirrhose (F4) zu den Zeitpunkten ein, drei und fünf Jahre nach OLT erfasst.

**Tabelle 20.** Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert, negativer prädiktiver Wert und „area under the receiver operating curve (AUROC)“ von DARFI zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) und einer Leberzirrhose (F4) ein, drei und fünf Jahre nach OLT.

Score	AUC	95% CI	p	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	ppW (%)	npW (%)
DARFI(1) <sup>a</sup> > 7	0.834	0.769-0.887	0.000	62.2	91.5	67.6	89.5
DARFI(2) <sup>a</sup> > 7	0.953	0.909-0.980	0.000	100	83.6	23.5	100
DARFI(1) <sup>b</sup> > 6	0.690	0.605-0.765	0.000	68.1	65.9	50.8	80.0
DARFI(2) <sup>b</sup> > 6	0.903	0.842-0.947	0.000	85.7	79.4	18.2	99.0
DARFI(1) <sup>c</sup> > 6	0.680	0.578-0.771	0.002	60.5	66.7	59.1	67.9
DARFI(2) <sup>c</sup> > 6	0.740	0.641-0.824	0.013	90.0	59.8	20.5	98.1

In Klammern angegeben sind die untersuchten Fibrosestadien: (1): höhergradige Fibrose (F3, F4), (2): Leberzirrhose (F4)

<sup>a</sup> DARFI berechnet zum 1-Jahreszeitpunkt. <sup>b</sup> DARFI berechnet zum 3-Jahreszeitpunkt. <sup>c</sup> DARFI berechnet zum 5-Jahreszeitpunkt.

#### 4.2.3.2 AUC und „Cut-off“-Werte verschiedener nicht-invasiver Messverfahren

Die Tabellen 21, 22 und 23 beinhalten die individuell berechneten AUCs, „Cut-off“-Werte, p-Werte, Konfidenzintervalle, die Sensitivität, die Spezifität, den npW und den ppW der verschiedenen nicht-invasiven Marker für die Prädiktion einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) und die Tabellen 24, 25 und 26 für die Prädiktion einer Leberzirrhose (F4) zu den Zeitpunkten ein, drei und fünf Jahre nach OLT.

**Tabelle 21.** Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert, negativer prädiktiver Wert und „AUROC“ der nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) ein Jahr nach OLT.

Score	AUC	95% CI	p	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	ppW (%)	npW (%)
AAR ≤ 0.6	0.669	0.598-0.736	0.001	27.5	98.0	78.6	83.7
API ≤ 3	0.592	0.518-0.662	0.078	76.9	40.0	25.0	87.0
API(s) > 5	0.646	0.573-0.715	0.005	53.8	71.4	33.3	85.4
APR ≤ 0.5	0.636	0.550-0.717	0.027	32.1	94.5	60.0	84.4
APRI > 1.03	0.751	0.683-0.810	0.000	74.4	69.5	38.7	91.3
CDS > 7	0.678	0.606-0.745	0.001	34.2	89.8	46.4	84.1
FI > 3.01	0.651	0.576-0.721	0.002	43.2	88.5	50.0	85.4
Forns > 7.48	0.659	0.585-0.728	0.003	55.3	77.9	40.4	86.5
Forns(s) > 5.86	0.691	0.616-0.759	0.000	60.5	72.2	38.3	86.5
iAAR > 1.2	0.670	0.598-0.736	0.001	40.0	85.5	42.1	84.4
Pohl > 0	0.578	0.504-0.649	0.135	30.8	84.8	34.3	82.6

**Tabelle 22.** Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert, negativer prädiktiver Wert und „AUROC“ der nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) drei Jahre nach OLT.

Score	AUC	95% CI	p	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	ppW (%)	npW (%)
AAR > 1.57	0.491	0.407-0.574	0.859	36.0	75.0	42.9	69.2
API > 4	0.643	0.559-0.722	0.005	80.0	45.2	44.0	80.8
API(s) > 2	0.662	0.580-0.738	0.001	84.0	41.2	42.4	83.3
APRI > 0.73	0.684	0.602-0.759	0.000	72.0	64.6	51.4	81.6
CDS > 5	0.610	0.524-0.692	0.034	63.8	56.0	42.9	75.0
iAAR ≤ 0.63	0.491	0.408-0.575	0.859	36.0	75.0	42.9	69.2
Pohl > 0	0.549	0.464-0.632	0.336	30.6	79.2	42.9	69.1

**Tabelle 23.** Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert, negativer prädiktiver Wert und „AUROC“ der nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) fünf Jahre nach OLT.

Score	AUC	95% CI	p	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	ppW (%)	npW (%)
AAR ≤ 0.6	0.627	0.490-0.751	0.010	78.8	52.0	68.4	65.0
API > 5	0.598	0.495-0.696	0.093	58.7	62.3	57.4	63.5
API(s) > 5	0.667	0.568-0.757	0.004	44.7	91.1	80.8	66.2
APRI > 0.64	0.676	0.575-0.766	0.003	56.5	72.2	63.4	66.1
CDS > 5	0.672	0.568-0.765	0.004	58.5	66.0	57.1	67.3
iAAR > 0.97	0.651	0.550-0.743	0.010	41.3	85.5	70.4	63.5
Pohl > 0	0.539	0.436-0.640	0.505	30.4	77.4	53.8	56.2

**Tabelle 24.** Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert, negativer prädiktiver Wert und „AUROC“ der nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer Leberzirrhose (F4) ein Jahr nach OLT.

Score	AUC	95% CI	p	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	ppW (%)	npW (%)
AAR ≤ 0.73	0.928	0.882-0.960	0.000	87.5	89.7	26.9	99.4
API ≤ 3	0.636	0.563-0.704	0.223	85.7	37.4	5.0	98.6
API(s) > 5	0.738	0.668-0.799	0.033	85.7	68.2	9.5	99.2
APR ≤ 0.62	0.506	0.420-0.593	0.959	66.7	66.4	4.3	98.9
APRI > 1.1	0.892	0.839-0.933	0.000	100.0	64.5	9.7	100.0
CDS > 7	0.886	0.831-0.928	0.001	85.7	87.6	21.4	99.4
FI > 3.12	0.740	0.668-0.803	0.045	66.7	87.6	16.0	98.7
Forns > 9.51	0.735	0.664-0.799	0.050	50.0	93.6	21.4	98.2
Forns(s) > 6.04	0.841	0.778-0.893	0.005	100.0	69.7	10.7	100.0
iAAR > 1.34	0.927	0.881-0.960	0.000	87.5	89.7	26.9	99.4
Pohl > 0	0.701	0.630-0.765	0.071	57.1	83.1	11.4	98.1

**Tabelle 25.** Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert, negativer prädiktiver Wert und „AUROC“ der nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer Leberzirrhose (F 4) drei Jahre nach OLT.

Score	AUC	95% CI	p	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	ppW (%)	npW (%)
AAR ≤ 0.88	0.813	0.741-0.873	0.005	85.7	76.3	15.4	99.1
API > 6	0.782	0.705-0.847	0.012	85.7	68.4	12.2	98.9
API(s) >5	0.830	0.759-0.887	0.003	85.7	75.0	14.6	99.1
APRI > 1.41	0.899	0.839-0.943	0.000	100.0	72.7	15.6	100.0
CDS >6	0.890	0.825-0.937	0.001	85.7	74.8	15.4	99.0
iAAR > 1.13	0.814	0.742-0.874	0.005	85.7	77.0	15.8	99.1
Pohl ≤ 0	0.627	0.543-0.706	0.128	100.0	25.4	6.4	100.0

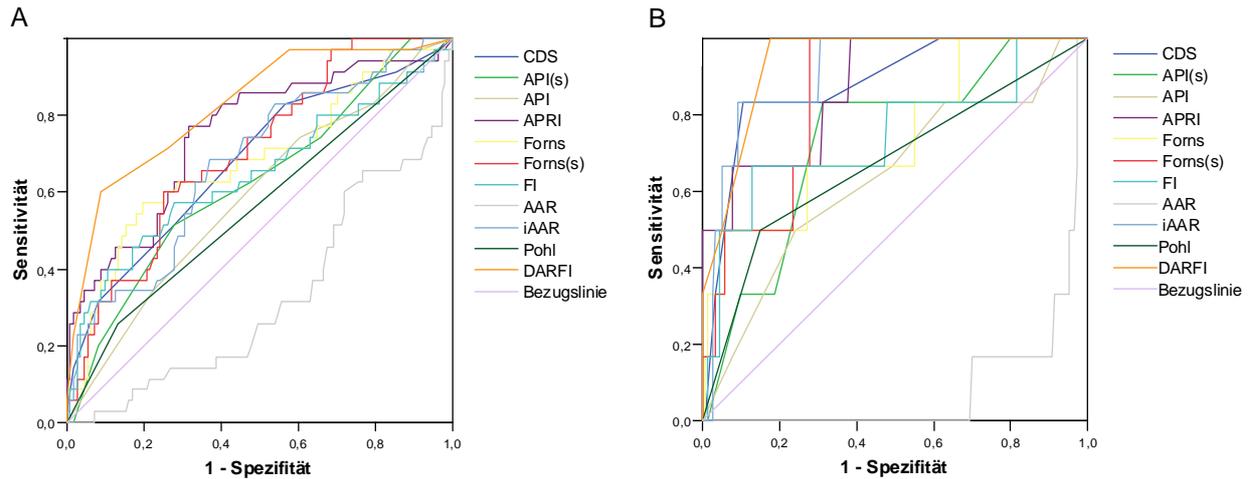
**Tabelle 26.** Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert, negativer prädiktiver Wert und „AUROC“ der nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer Leberzirrhose (F 4) fünf Jahre nach OLT.

Score	AUC	95% CI	p	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	ppW (%)	npW (%)
AAR ≤ 1.15	0.696	0.597-0.784	0.044	70.0	67.0	18.9	95.3
API > 5	0.615	0.511-0.711	0.236	70.0	55.1	14.9	94.2
API(s) > 5	0.709	0.611-0.794	0.031	60.0	78.5	23.1	94.8
APRI > 2.03	0.740	0.643-0.823	0.014	50.0	90.0	35.7	94.2
CDS > 6	0.795	0.699-0.871	0.006	62.5	86.0	29.4	96.1
iAAR > 0.86	0.695	0.595-0.782	0.044	70.0	67.0	18.9	95.3
Pohl > 0	0.521	0.418-0.622	0.830	30.0	74.2	11.5	90.4

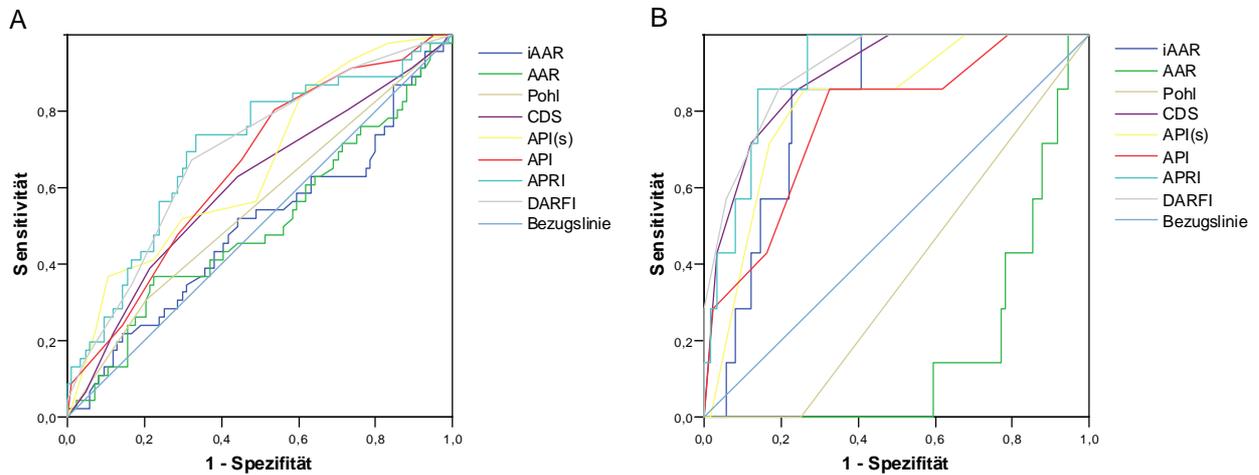
#### 4.2.3.3 Vergleich der nicht-invasiven Messverfahren und des DARFI

In einem weiteren Schritt wurden die verschiedenen nicht-invasiven Messverfahren und der DARFI miteinander mittels ROC-Analysen verglichen. Die ROC-Kurven der verschiedenen nicht-invasiven Marker und des DARFI sind in Abbildung 5, 6 und 7 erfasst.

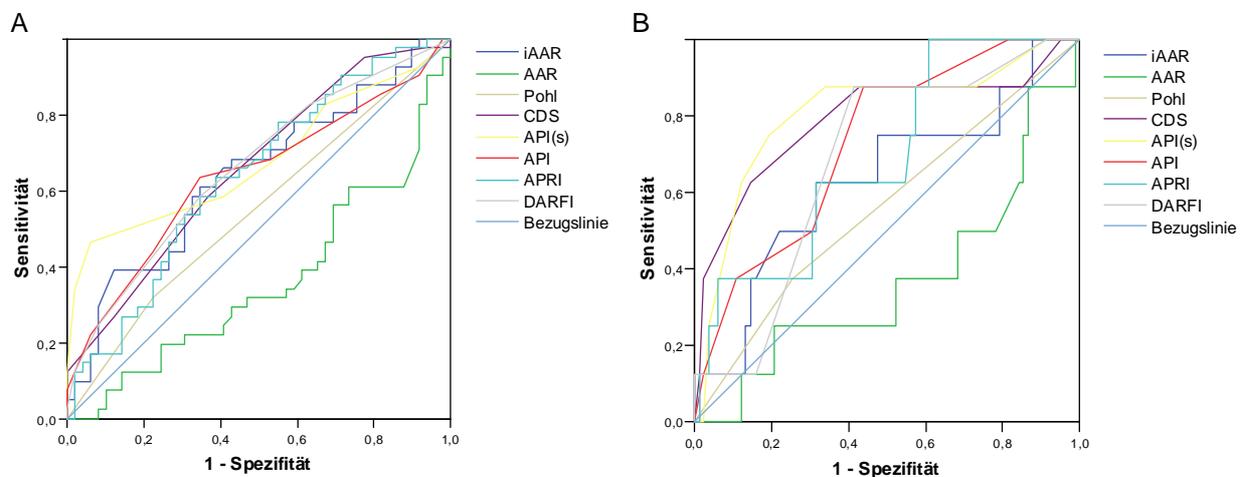
Die AUCs und Konfidenzintervalle des DARFI und der nicht-invasiven Messverfahren bezüglich einer Vorhersage der verschiedenen Fibrosestadien zu den Zeitpunkten ein, drei und fünf Jahre nach OLT sind in den Tabellen 27, 28 und 29 angegeben.



**Abb. 5:** ROC-Kurven von elf nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) (A) und einer Leberzirrhose (F4) (B) angelehnt an den Metavirscore bei 146 Patienten mit HCV-Reinfektion ein Jahr nach OLT.



**Abb. 6:** ROC-Kurven von sieben nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) (A) und einer Leberzirrhose (F4) (B) angelehnt an den Metavirscore bei 130 Patienten mit HCV-Reinfektion drei Jahre nach OLT.



**Abb. 7:** ROC-Kurven von sieben nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) (A) und einer Leberzirrhose (F4) (B) angelehnt an den Metavirscore bei 90 Patienten mit HCV-Reinfektion fünf Jahre nach OLT.

**Tabelle 27.** „AUROC“ und Konfidenzintervalle von DARFI und der nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) und Leberzirrhose (F4) ein Jahr nach OLT.

Score	AUC(1)	95% CI(1)	AUC(2)	95% CI(2)
DARFI	0.824	0.743-0.904	0.939	0.883-0.994
AAR	0.324	0.222-0.426	0.089	0.003-0.175
API	0.586	0.478-0.695	0.636	0.396-0.876
API(s)	0.627	0.519-0.734	0.733	0.543-0.923
APRI	0.750	0.652-0.847	0.871	0.741-1.002
CDS	0.680	0.575-0.786	0.880	0.747-1.012
FI >	0.645	0.529-0.762	0.747	0.507-0.987
Forns	0.682	0.573-0.791	0.739	0.525-0.953
Forns(s)	0.705	0.611-0.799	0.852	0.748-0.957
iAAR	0.676	0.574-0.778	0.911	0.825-0.997
Pohl	0.561	0.448-0.674	0.675	0.427-0.923

In Klammern angegeben sind die untersuchten Fibrosestadien von insgesamt 146 Patienten: (1): höhergradige Fibrose (F3, F4 n=35), (2): Leberzirrhose (F4, n=6)

**Tabelle 28.** „AUROC“ und Konfidenzintervalle von DARFI und der nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) und Leberzirrhose (F4) drei Jahre nach OLT.

Score	AUC(1)	95% CI(1)	AUC(2)	95% CI(2)
DARFI	0.695	0.601-0.789	0.912	0.827-0.998
AAR	0.503	0.395-0.610	0.180	0.082-0.278
API	0.654	0.557-0.750	0.778	0.607-0.950
API(s)	0.658	0.561-0.755	0.820	0.681-0.959
APRI	0.699	0.603-0.795	0.906	0.832-0.980
CDS	0.607	0.503-0.710	0.893	0.796-0.990
iAAR	0.497	0.390-0.605	0.820	0.722-0.918
Pohl	0.551	0.446-0.656	0.374	0.203-0.545

In Klammern angegeben sind die untersuchten Fibrosestadien von insgesamt 130 Patienten: (1): höhergradige Fibrose (F3, F4 n=46), (2): Leberzirrhose (F4, n=7)

**Tabelle 29.** „AUROC“ und Konfidenzintervalle von DARFI und der nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) und Leberzirrhose (F4) fünf Jahre nach OLT.

Score	AUC(2)	95% CI(2)	AUC(3)	95% CI(3)
DARFI	0.661	0.548-0.773	0.684	0.515-0.852
AAR	0.358	0.242-0.474	0.368	0.152-0.584
API	0.637	0.519-0.755	0.729	0.566-0.893
API(s)	0.679	0.563-0.795	0.806	0.626-0.987
APRI	0.638	0.524-0.752	0.691	0.514-0.867
CDS	0.659	0.547-0.771	0.789	0.586-0.991
iAAR	0.642	0.526-0.758	0.632	0.416-0.848
Pohl	0.546	0.426-0.667	0.559	0.343-0.776

In Klammern angegeben sind die untersuchten Fibrosestadien von insgesamt 90 Patienten: (1): höhergradige Fibrose (F3, F4 n=41), (2): Leberzirrhose (F4, n=8)

## 4.3 Subgruppe Spenderfaktoren

### 4.3.1 Spendercharakteristika und Spenderhistologie

Das mittlere Alter der 40 (50,6%) männlichen und 39 (49,4%) weiblichen Spender betrug 40 Jahre (10-75). Die Todesursachen sind in Tabelle 30 zusammengefasst.

**Tabelle 30.** Charakteristika der 79 Transplantatspender

Kriterien	Daten
Alter (Jahre)	39 (10-75)
Geschlecht (n)	
Männlich	40
Weiblich	39
Todesursache (n)	
Schädelhirntrauma (SHT)	39
Zerebrale Blutung	11
Subarachnoidalblutung	20
Zerebrale Hypoxie	4
Hirnödem	2
Ischämischer Hirninsult	3
Zeit auf Intensivstation (Stunden)	118 (24-456)
Katecholaminpflichtigkeit	
Ja	69
Nein	10

Die mittlere Verweildauer auf der Intensivstation (Intensive Care Unit, ICU) lag bei 118 Stunden (24-456). Während des Aufenthaltes auf der ICU waren 69 (87,3%) Patienten katecholaminpflichtig. Mittels ROC-Analyse konnte eine signifikante Assoziation zwischen der Variable Spenderalter (> 33 Jahre) und einem verminderten Patientenüberleben ( $p=0.037$ ) nachgewiesen werden, wohingegen die Verweildauer auf der ICU keinen Einfluss auf das Patientenüberleben hatte ( $p=0.53$ ). Bei den verschiedenen Todesursachen ließ sich ebenfalls kein Einfluss auf das Patientenüberleben ermitteln.

Die histologische Evaluation der Spenderorgane in Hinsicht auf vier verschiedene Kriterien zeigte folgende Ergebnisse: eine intrahepatische Inflammation mit einem mittleren Wert von 0,5 (0-2) ließ sich in 51 (64,6%) der Spenderlebern nachweisen. Bei 21 (26,6%) der 79 Spenderlebern zeigten sich Anzeichen der Fibrose mit einem mittleren Fibrorestadium von 1 (0-1) und bei 31 (39,2%) der Spenderlebern konnten nekrotische Hepatozyten mit einem Mittelwert von 1 (0-2) identifiziert werden.

Eine Steatose der Spenderleber wurde bei 33 (78,6%) der untersuchten Transplantate beobachtet. Der mittlere Fettgehalt lag bei 20% (0%-70%).

Das Auftreten einer intrahepatischen Inflammation korrelierte in unserer Spenderpopulation signifikant mit einem Spenderalter  $> 33$  Jahre ( $p < 0.05$ ). Bei Spendern mit einer Verweildauer über 96 Stunden auf der ICU ließ sich ebenfalls eine signifikant höhere Inzidenz einer portalen Inflammation nachweisen ( $p < 0.05$ ).

#### 4.3.2 Überlebensraten

Die 5-Jahres-Gesamtüberlebensraten der Patienten und Transplantate der 79 HCV-positiven lebertransplantierten Empfänger betragen 77% und 76%. Während der Nachbeobachtungsphase verstarben 21 (26,6%) Patienten. Die Todesursachen der Patienten sind in Tabelle 31 erfasst.

**Tabelle 31.** Todesursachen der Patienten der Subgruppe Spenderfaktoren nach OLT

Patienten verstorben (n=21)	n	%
Transplantatversagen bei HCV-Reinfektion	9	42,9
Kardiopulmonale Dekompensation	7	33,3
Myokardinfarkt	3	(42,8)
Pneumonie	2	(28,6)
Lungenembolie	2	(28,6)
Transplantatversagen bei Rezidivtumor (HCC)	4	19,1
De-novo-Lymphom	1	4,8

Kein Patient der Kohorte verstarb aufgrund eines Transplantatversagens oder aufgrund einer chronischen Abstoßungsreaktion. Die Spenderkriterien intrahepatische Inflammation ( $p=0.16$ ), nekrotische Hepatozyten ( $p=0.24$ ) oder Fettgehalt des Transplantates ( $p=0.23$ ) besaßen keinen Einfluss auf das Patientenüberleben (Tabelle 32).

**Tabelle 32.** Histologische Analyse der Transplantate und Korrelation mit dem Empfängerüberleben

Kriterien	Range	Median	p-Wert
Intrahepatische Inflammation	0 – 2	0.5	0.19
Fibrose	0 – 1	1	0.16
Nekrotische Hepatozyten	0 – 3	1	0.24
Fettgehalt [involvierte Hepatozyten in Prozent]	0 – 70	20	0.23

Außerdem konnte keine Korrelation zwischen den Spenderfaktoren Todesursache, Zeit auf Intensivstation und dem Patientenüberleben identifiziert werden. Eine höhere Inzidenz an Organversagen als Todesursache wurde bei den Patienten beobachtet ( $p > 0.014$ ), bei denen das Transplantat von einem Spender stammte, der eine längere Verweildauer auf der ICU ( $> 96$  Stunden, ermittelt durch ROC-Analysen) aufwies.

### 4.3.3 Fibroseprogression nach OLT

Der mittlere Fibrosewert der Hepatitis-C-positiven Patienten betrug  $1.2 \pm 1.01$  (0-4) zum 1-Jahreszeitpunkt,  $1.8 \pm 1.09$  (0-4) zum 3-Jahreszeitpunkt und  $1.8 \pm 1.2$  (0-4) zum 5-Jahreszeitpunkt nach OLT. Bei acht (10,1%) der 79 Transplantatempfänger lag bereits innerhalb eines Jahres nach OLT eine höhergradige Fibrose (F3, F4) vor. Alle Patienten, deren Spenderleber eine histologisch nachgewiesene portale Inflammation aufwies, entwickelten eine höhergradige Fibrose innerhalb des ersten Jahres nach der Lebertransplantation. Hingegen zeigte keiner der Patienten, die ein Transplantat ohne Zeichen einer portalen Inflammation empfangen, innerhalb des ersten Jahres nach OLT ein höheres Fibrorestadium als F2, was statistisch signifikant ist ( $p < 0.05$ ). Die jährliche Fibroseprogressionsrate betrug bei Patienten mit Transplantaten ohne Anzeichen einer portalen Entzündung innerhalb des ersten Jahres nach OLT 0.8. Bei Patienten, die Transplantate mit portaler Inflammation erhielten, betrug die jährliche Fibroseprogressionsrate 1.4.

Keiner der Patienten, die ein Transplantat ohne Zeichen portaler Inflammation erhielten, entwickelte postoperativ eine Leberzirrhose oder verstarb an einer Hepatitis-C-Reinfektion. Der Fettgehalt der Spenderleber war nicht mit einer beschleunigten Fibroseprogression im ersten Jahr nach OLT assoziiert.

Die mit der Entwicklung einer höhergradigen Fibrose assoziierten Kriterien der Spenderhistologie sind in Tabelle 33 erfasst.

**Tabelle 33.** Histologie des Spenderorgans und Entwicklung einer höhergradigen Fibrose (F3, F4) innerhalb des ersten Jahres nach OLT

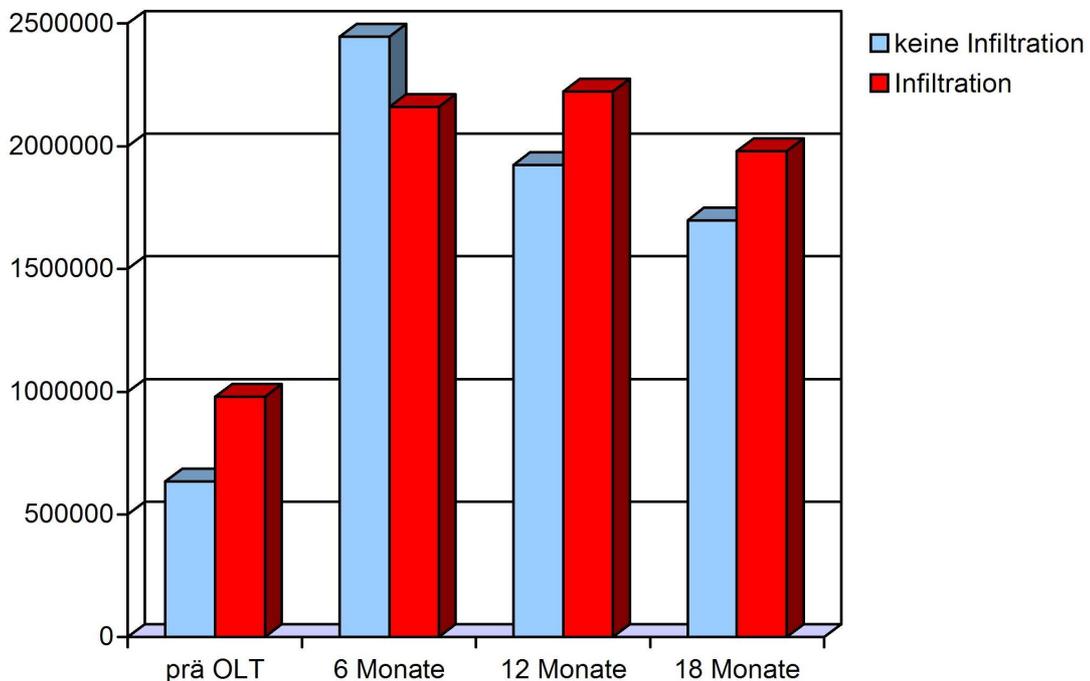
Kriterien	Range	Median	p-Wert
Portale Inflammation	0-2	0.5	0.05
Fibrose	0-1	1	n.s.
Nekrotische Hepatozyten	0-3	1	n.s.
Fettgehalt [Prozentanteil involvierter Hepatozyten]	0-70	20	n.s.

Während der Nachbeobachtung ließen sich bei keinem Patienten Anzeichen einer chronischen Abstoßungsreaktion beobachten.

### 4.3.4 Verlauf der Viruslast nach OLT

Die Messungen der HCV-RNA innerhalb der ersten 18 Monate nach der Lebertransplantation zeigten keinen signifikanten Unterschied zwischen den Patienten

mit Transplantaten ohne portale Inflammation und den Patienten, die eine Spenderleber mit Zeichen einer portalen Inflammation erhielten. Ein leichter Trend zu niedrigeren Viruslasten im Serum konnte jedoch bei Patienten mit Transplantaten ohne Zeichen einer portalen Inflammation beobachtet werden (Abbildung 8).



**Abb. 8:** Messung der HCV-RNA (IU/ml) innerhalb der ersten 18 Monate nach Lebertransplantation bei Patienten mit Transplantaten mit portaler Infiltration vs. keine Zeichen portaler Infiltration.

#### 4.4 Subgruppe genetische Faktoren und Eisenstoffwechsel

Daten zu den Mutationen C282Y, H63D, C65S, M235T und 6G>A waren nur bei 147 (47,9%) Patienten der Patientenkohorte vorhanden. Homozygot für eine Mutation im HFE-Gen waren ausschließlich zwei Patienten im Rahmen einer Mutation in H63D. Die Allelfrequenz für eine homozygote Mutation von M235T betrug 17,0% (n=25) und für eine homozygote Mutation von -6G>A 17,0% (n=25). Bei 18 (12,2%) der Patienten lag eine heterozygote Mutation für C282Y vor, 36 (24,5%) waren heterozygot für die H63D Mutation, 3 (2,0%) waren heterozygot für die C65S Mutation, 71 (48,3%) waren heterozygot für die M235T Mutation und 67 (45,6%) waren heterozygot für die -6G>A Mutation. Bei vier Patienten lag eine „Compound“-Heterozygotie (heterozygote Mutation in C282Y und H63D) vor.

Die Verteilung der Fibrosestadien keine (F0), milde (F1), moderat ohne Septenbildung (F2), moderat mit Septenbildung (F3) und Zirrhose (F4) in Abhängigkeit der Genpolymorphismen ein, drei und fünf Jahre nach OLT ist in Tabelle 34 aufgeführt.

**Tabelle 34.** Verteilung der Fibrosestadien (F0 – F4) in Abhängigkeit der Genpolymorphismen C282Y, H63D, C65S, M235T und 6G>A ein, drei und fünf Jahre nach OLT

	F0	F1	F2	F3	F4
Polymorphismus					
C282Y					
heterozygot	3 <sup>a</sup> /1 <sup>b</sup> /0 <sup>c</sup>	7/3/1	1/0/3	4/5/3	0/0/1
Mutation (homozygot)	in der Patientenkohorte nicht vertreten				
Wildtyp (homozygot)	35/16/8	23/12/9	18/19/7	16/25/23	3/4/7
H63D					
heterozygot	8/3/0	8/3/1	7/3/5	4/8/5	1/3/2
Mutation (homozygot)	0/0/0	1/0/0	0/0/0	1/1/0	0/0/1
Wildtyp (homozygot)	30/14/8	21/12/9	12/16/5	15/21/21	2/1/5
C65S					
heterozygot	0/0/1	1/1/0	0/0/0	1/1/0	0/0/0
Mutation (homozygot)	in der Patientenkohorte nicht vertreten				
Wildtyp (homozygot)	38/17/7	29/4/10	19/19/10	19/29/26	3/4/8
M235T					
heterozygot	20/10/3	14/9/4	7/6/6	13/19/15	0/0/4
Mutation (homozygot)	8/2/1	3/2/3	4/4/1	3/6/5	1/0/1
Wildtyp (homozygot)	10/5/4	13/4/3	8/9/3	4/5/6	2/4/3
-6G>A					
heterozygot	17/8/1	14/9/4	8/6/6	12/19/15	0/0/4
Mutation (homozygot)	9/3/1	3/1/3	3/4/1	3/6/5	1/0/1
Wildtyp (homozygot)	11/6/6	13/4/2	8/9/3	5/5/6	2/4/3

<sup>a</sup> Fibrosestadium ein Jahr nach OLT.

<sup>b</sup> Fibrosestadium drei Jahre nach OLT.

<sup>c</sup> Fibrosestadium fünf Jahre nach OLT.

Die univariate Analyse konnte keine signifikante Korrelation mit dem Patienten- und Transplantatüberleben nach OLT sowie mit einer beschleunigten Fibroseentwicklung in den ersten fünf Jahren nach Lebertransplantation sowohl für die fünf oben erwähnten Genpolymorphismen als auch die Parameter des Eisenstoffwechsels (Eisen, Ferritin und Transferrin) nachweisen.

## 5 Diskussion

In den westlichen Industriestaaten ist das Endstadium der chronischen Hepatitis-C-Infektion mit ihren Komplikationen (Leberzirrhose, HCC) die häufigste Indikation für eine orthotope Lebertransplantation [73]. Ein generelles Problem nach Lebertransplantation stellt die Reinfektionshepatitis dar, die in nahezu 100% der Fälle universell nach Reperfusion des Transplantates eintritt [40].

Nach Lebertransplantation wird eine im Vergleich zum natürlichen Verlauf der chronischen Hepatitis C bei immunkompetenten Patienten eine akzelerierte Progression der Reinfektion bis hin zur Zirrhoseentwicklung beobachtet. Bei 10-40% der transplantierten HCV-Patienten tritt im Verlauf nach OLT eine schwere Transplantathepatitis auf, die innerhalb von fünf Jahren in das Stadium einer Leberzirrhose übergeht [71].

Der Einfluss verschiedener Risikofaktoren auf den Verlauf nach OLT wird teilweise kontrovers diskutiert [87]. Hierbei konnten Studien die Relevanz von Spender- und Empfängeralter, des Transplantationsjahres, immunologischer Einflussfaktoren, virusspezifischer Faktoren, der Nierenfunktion und von Koinfektionen mit dem Zytomegalie-Virus für den Verlauf nach OLT nachweisen [87].

Als einer der wichtigsten Risikofaktoren für einen beschleunigten Fibroseverlauf nach OLT konnte im Rahmen einer Studie von Neumann *et al.* [87] das Spenderalter gezeigt werden [87].

Einige Studien belegen, dass genetische Polymorphismen des HFE-Gens und des Angiotensinogen-Gens den Fibroseverlauf bei chronischer HCV-Infektion beeinflussen können, was jedoch sehr kontrovers diskutiert wird [5].

Ein schwerwiegendes Problem stellt die Evaluation und Behandlung der steigenden Zahl an chronischen Hepatitis-C-Patienten dar [93]. Die Leberbiopsie als Goldstandard für die Verlaufsbeobachtung chronischer Lebererkrankungen und der Fibrose musste sich in den letzten Jahren gegenüber neu eingeführter nicht-invasiver Messverfahren in einem Wettstreit um die Position des wichtigsten Diagnostikinstrumentes in der postoperativen Beobachtung des Fibroseverlaufs lebertransplantierte Patienten mit chronischer Hepatitis C behaupten [8, 119].

Im Rahmen dieser retrospektiven Studie wurde der Einfluss verschiedener Risikofaktoren auf den postoperativen Verlauf von Patienten mit Hepatitis-C-Reinfektion

nach orthotoper Lebertransplantation hinsichtlich des Patienten- und Transplantatüberlebens, sowie des Fibroseverlaufs untersucht. Dabei wurde ein besonderer Schwerpunkt auf die Aussagekraft verschiedener nicht-invasiver Messverfahren im Hinblick auf die Prädiktion der Fibroseprogression nach OLT gelegt. Zielsetzung dabei war die Entwicklung und Validierung eines solchen nicht-invasiven Messverfahrens.

Die Evaluation der Fibroseprogression erfolgte anhand von Protokollleberbiopsien einer großen Patientenkohorte von 300 Patienten während einer Nachbeobachtungsphase von 15 Jahren. Gesondert wurde der Einfluss der Initialfunktion direkt nach OLT, der Spenderfaktoren und der O-Biopsie des Spenders sowie der genetischen Polymorphismen im HFE- und AGT-Gen auf den Verlauf nach OLT eruiert.

Fünf wichtige Aussagen konnten auf Basis dieser Studie gemacht werden. Die Initialfunktion direkt im Anschluss an die orthotope Lebertransplantation besitzt einen signifikanten Einfluss auf das Patienten- und Transplantatüberleben, wobei eine besondere Bedeutung dem Gesamtbilirubin und der GGT in den Wochen vier und fünf nach OLT in Hinblick auf ein vermindertes Patienten- und Transplantatüberleben zukommen. Zudem konnte beobachtet werden, dass vorwiegend die Laborparameter der Initialfunktion, die bei Patienten zu einem späten Wochenzeitpunkt (Wochen vier und fünf) nach OLT bestimmt wurden, signifikant mit einem verminderten Patienten- und Transplantatüberleben korrelierten. Als Risikofaktor für die Entwicklung einer höhergradigen Fibrose ein Jahr nach OLT konnte das Gesamtbilirubin identifiziert werden.

Der von Neumann *et al.* [87] beschriebene nicht-lineare Fibroseverlauf konnte im Rahmen dieser Studie durch Nutzung von Protokollleberbiopsien ebenfalls beobachtet werden. Allerdings zeigte die Fibroserate vom siebten auf das zehnte Jahr nach OLT eine im Mittel negative Steigung.

Die Analyse der verschiedenen klinischen Spenderfaktoren zeigten eine signifikant höhere Inzidenz intrahepatischer Inflammation bei älteren Spendern (33 > Jahre durch ROC-Analysen), sowie bei Spendern mit einem langen Aufenthalt auf der Intensivstation vor der Transplantation. Ein Spenderalter > 34 Jahre (durch ROC-Analysen) war zudem einer der wichtigsten Risikofaktoren hinsichtlich eines verminderten Patienten- und Transplantatüberlebens in der Nachbeobachtungsphase

nach OLT. Als weiterer signifikanter Risikofaktor für die Fibroseprogression nach OLT stellte sich eine portale Inflammation der Spenderleber heraus.

Polymorphismen im HFE- und im AGT-Gen zeigten weder eine Assoziation mit einem verminderten Patienten- und Transplantatüberleben noch mit einer beschleunigten Fibroseprogression.

Die wichtigste Erkenntnis der Anwendung nicht-invasiver Messverfahren zur Prädiktion des Fibroseverlaufes lässt sich folgendermaßen zusammenfassen: Jedes nicht-invasive Messverfahren, welches die Variable Alter beinhaltet, kann durch den Einsatz des Spenderalters deutlich höhere Vorhersagewerte erreichen. Der im Rahmen dieser Studie entwickelte DARFI zeigte im direkten Vergleich aller nicht-invasiven Messverfahren zum 1-Jahreszeitpunkt die besten Vorhersagewerte hinsichtlich der Prädiktion höhergradiger Fibrorestadien bzw. einer Leberzirrhose.

## **5.1 Mit dem klinischen und histologischen Verlauf assoziierte Faktoren**

In den letzten Jahren konnten eine Reihe an Faktoren identifiziert werden, die bei Hepatitis-C-Patienten nach OLT mit einem reduzierten Patienten- und Transplantatüberleben, sowie einer beschleunigten Fibroseprogression assoziiert sind [63]. Es ist bekannt, dass weibliche Empfänger, ältere Empfänger, Nicht-Kaukasier, Empfänger mit einer Nierensuffizienz, Transplantate älterer Spender (> 40 Jahre), Behandlung akuter Abstoßungsreaktionen (Kortikosteroid-Boli, OKT3), sowie eine hohe Viruslast vor der Transplantation mit einem reduzierten Patienten- und Transplantatüberleben einhergehen [63]. Eine beschleunigte Fibroseentwicklung konnte bei Patienten beobachtet werden, die Transplantate älterer Spender (> 40 Jahre) erhielten, mit Behandlung einer akuten Abstoßungsreaktionen (Kortikosteroid-Boli, OKT3), mit einer hohen Viruslast vor der Transplantation, die zusätzlich eine Hepatitis-B- oder Zytomegalievirus-Koinfektion aufwiesen. Kontrovers wird derzeit der Einfluss des Virusgenotyps, der HLA-Kompatibilität, der kalten Ischämiezeit, des Effektes spezifischer Immunsuppressiva und von Leberlebendspenden auf den Fibroseverlauf nach OLT diskutiert [63].

In nahezu 100% der Fälle tritt nach einer Lebertransplantation bei HCV-positiven Patienten eine Transplantatreinfektion ein. Dies geschieht durch die Redistribution von Viren aus den extrahepatischen Geweben bzw. dem Serum in dem ersten Jahr nach

der Transplantation [40]. Unmittelbar nach Explantation und Reperfusion sinkt die Viruslast. Ungefähr 72 Stunden nach Transplantation erreicht die Viruslast allerdings denselben Stand wie vor der Lebertransplantation [39]. Im weiteren Verlauf erreicht die Viruslast Werte, die bis zu zehnmals höher liegen können als vor der Lebertransplantation [21]. Die Folge ist eine Transplantathepatitis mit zum Teil akzelerierten Verläufen (> 40% nach einem Jahr, > 60% nach drei Jahren). Der andere Teil der Patienten zeigt nach OLT trotz persistierender HCV-Virämie keine Transplantathepatitis [13]. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass die Gabe von Steroiden mit einem Anstieg der HCV-RNA-Titer assoziiert ist [36]. Bei 70-90% der HCV-Patienten finden sich im ersten postoperativen Jahr bereits lymphozytäre Infiltrate, periportale Entzündung und eine beginnende Fibrose in den Leberbiopsaten. Nach fünf Jahren findet sich dieses Bild bei 90-95% der Patienten [39].

Verglichen mit dem klinischen Verlauf HCV-negativer Patienten nach OLT zeigen HCV-Patienten nach OLT ein reduziertes Langzeitüberleben, sowie eine beschleunigte Fibroseprogression. Allerdings beträgt die 5-JÜR der Patienten mit chronischer Hepatitis C nach OLT im Vergleich zu Patienten mit anderen Grunderkrankungen trotz der hohen Rezidivrate 70-80% [40].

Die Zeitspanne von der Reinfektion bis zur Zirrhoseentwicklung ist bei immunkomprimierten HCV-Patienten kürzer als im natürlichen Verlauf der chronischen Hepatitis C. Bei 10-40% der transplantierten HCV-Patienten tritt im Verlauf nach OLT eine schwere Transplantathepatitis auf, die innerhalb von fünf Jahren in das Stadium der Leberzirrhose übergeht [71].

Die Identifikation möglicher Risikofaktoren ist deshalb von großer klinischer Relevanz, um akzelerierte HCV-Reinfektionen klinisch besser einschätzen zu können. Ziel dabei ist die Identifikation von Patienten, die von frühzeitigen antiviralen Therapiemaßnahmen profitieren könnten.

Der Einfluss der Initialfunktion des Transplantates auf den postoperativen Verlauf bei HCV-positiven Patienten nach orthotoper Lebertransplantation hinsichtlich des Patienten- und Transplantatüberlebens ist in dieser Form noch nicht eruiert worden. Aufgrund der frühzeitigen Reinfektion des Transplantates erscheint es wichtig die Parameter in den ersten Wochen nach OLT zu untersuchen, um Aussagen über mögliche pathophysiologische Vorgänge der Hepatitis-C-Reinfektion machen zu können.

### 5.1.1 Rolle der Initialfunktion des Transplantates nach OLT

Mit einem reduzierten Patientenüberleben nach OLT korrelierten in multivariater Analyse das Gesamtbilirubin drei und vier Wochen nach OLT, die GGT vier Wochen nach OLT und die Leukozyten- und Thrombozytenzahl fünf Wochen nach OLT. Hinsichtlich eines Transplantatverlustes zeigten in multivariater Analyse der Gallefluss eine Woche nach OLT, AST und AST/ALT-Ratio zwei Wochen nach OLT, das Gesamtbilirubin zwei bis fünf Wochen nach OLT, GGT und AP vier Wochen nach OLT und die Leukozytenzahl fünf Wochen nach OLT eine signifikante Korrelation.

Ganz eindeutig konnte eine Tendenz für ein reduziertes Patienten- und Transplantatüberleben für die Parameter gesehen werden, die zu einem späten Wochenzeitpunkt (Wochen vier und fünf) erhoben worden waren. Die postoperative Verlaufsbeobachtung erfolgte bei dem Großteil der Patienten höchstens bis zur dritten Woche nach OLT. Sofern die Patienten klinisch unauffällig waren, konnte die stationäre Behandlung beendet werden und eine ambulante Weiterbetreuung der Patienten eingeleitet werden. Bei den Patienten, die über drei Wochen hinaus im Verlauf beobachtet werden mussten, erscheint ein dramatischer Verlauf der Hepatitis-C-Reinfektion sehr wahrscheinlich. Die Leukozyten- und Thrombozytenzahl zeigten fünf Wochen nach OLT eine signifikante Korrelation mit einem reduzierten Patientenüberleben, sowie einem reduzierten Transplantatüberleben für die Leukozytenzahl fünf Wochen nach OLT. Diese Ergebnisse lassen sich im Zusammenhang mit septischen Verläufen vereinbaren, unter denen es zu einem Multiorganversagen mit einer hohen Letalität von 20-50% kommt. Als typische Veränderungen im Blutbild lassen sich eine Leukopenie und eine Thrombopenie nachweisen [107]. Insgesamt verstarben 7 (5,8%) Patienten der Kohorte an einer Sepsis.

Die Cholestaseparameter Gesamtbilirubin, GGT, AP und der Gallefluss (in der ersten Woche nach OLT) zeigten ebenfalls eine signifikante Korrelation mit einem reduzierten Patienten- bzw. Transplantatüberleben. Es ist deshalb davon auszugehen, dass bei einem Teil der Patienten cholestatische Verläufe postoperativ auftraten und bei einigen dieser Patienten eine cholestatische Hepatitis C eintrat. Schwere cholestatisch verlaufende Transplantatreinfektionen mit konsekutivem Transplantatversagen innerhalb des ersten postoperativen Jahres werden in seltenen Fällen (1-10%) [39] beobachtet. Die cholestatische Hepatitis C ist charakterisiert durch einen schweren

Ikterus, gefolgt von einem raschen Leberversagen ohne Leberzirrhose. Histologisch lässt sich eine starke Schwellung der Hepatozyten, intrahepatische Cholestase, Gallengangsproliferationen, prominente perizelluläre und portale Fibrose, beobachten. Die häufigste Todesursache bei Patienten mit cholestatischer Hepatitis C ist die Sepsis [39]. Dixon *et al.* konnten erst kürzlich anhand einer Studie mit 77 Leberbiopsien von lebertransplantierten Patienten mit einer Hepatitis-C-Reinfektion nachweisen, dass bei Patienten mit einer Cholestase überaus häufig eine fibrosierende cholestatische Hepatitis vorliegt. Allein der Verdacht auf eine fibrosierende cholestatische Hepatitis sollte deshalb Anlass für eine Leberbiopsie sein, um das Patienten- und Transplantatüberleben zu optimieren [30]. Diese Ergebnisse untermauern die im Rahmen der vorliegenden Studie nachgewiesene Assoziation zwischen den Cholestaseparametern in den ersten Wochen nach OLT und einem reduzierten Patienten- und Transplantatüberleben.

Mit einem reduzierten Transplantatüberleben korrelierten AST und der AST/ALT-Ratio zwei Wochen nach OLT signifikant. Es ist bekannt, dass bei Patienten mit einer Hepatitis C erhöhte Werte von AST auf eine Schädigung der Hepatozyten hinweisen [76, 108]. Diese Ergebnisse lassen sich mit der Tatsache, dass ungefähr 72 Stunden nach Transplantation die Viruslast das gleiche Level wie vor der Lebertransplantation erreicht, begründen. Im weiteren Verlauf zeigt die Viruslast dann bis zu zehnmal höher liegende Werte als vor der Lebertransplantation. Besonders in der zweiten Woche scheint somit die Viruslast am höchsten zu sein und eine konsekutive Schädigung der Hepatozyten zu bewirken. Häufig kommt es bei diesen Patienten zu einem akzelerierten Leberversagen, was zu einem reduzierten Transplantatüberleben führt [13].

Signifikant mit einem reduzierten Patienten- bzw. Transplantatüberleben korrelierten somit die Cholestaseparameter (Gesamtbilirubin, AP und GGT) in den Wochen drei bis fünf nach OLT sowie der Gallefluss eine Woche nach OLT, die Thrombozyten- und Leukozytenzahl in der fünften Woche als Ausdruck eines septischen Verlaufes, sowie AST und der AST/ALT-Ratio zwei Wochen nach OLT als Zeichen einer akuten Leberzellschädigung durch eine massive Hepatitis-C-Reinfektion. Besonders auffällig war die Tatsache, dass die Laborparameter der Initialfunktion, die bei Patienten zu einem späten Wochenzeitpunkt (Wochen vier und fünf) nach OLT bestimmt wurden, eine signifikante Korrelation mit einem verminderten Patienten- und Transplantatüberleben zeigten.

Auf Basis dieser Ergebnisse lässt sich schlussfolgern, dass die Auswertung der Laborparameter direkt im Anschluss an eine durchgeführte orthotope Lebertransplantation bei Hepatitis-C-Patienten essentiell wichtig ist, um mögliche cholestatische oder septische Verläufe zu identifizieren. Bei Patienten, mit laborchemischen Zeichen einer Cholestase sollte bei Persistenz der pathologisch erhöhten Werte spätestens drei Wochen nach OLT eine Leberbiopsie durchgeführt werden, um eine fibrosierende cholestatische Hepatitis auszuschließen und das Patienten- bzw. Transplantatüberleben zu optimieren.

Die multivariate Analyse möglicher Prädiktoren bzw. Risikofaktoren für eine beschleunigte Fibroseprogression ein Jahr nach OLT ergab für den Parameter Gesamtbilirubin eine Woche nach OLT eine signifikante Korrelation mit der Entwicklung einer höhergradigen Fibrose.

Im Rahmen einer fibrosierenden cholestatischen Hepatitis kommt es zu einer raschen Fibroseprogredienz. Die Cholestaseparameter Gesamtbilirubin und GGT können in der klinischen Diagnostik dazu dienen diese mögliche Form der aggressiven Hepatitis-C-Reinfektion zu erkennen [114]. Deshalb lässt sich vermuten, dass bei einem Teil der untersuchten Patienten die fibrosierende cholestatische Hepatitis in milder oder fulminanter Form aufgetreten sein muss. Eine ausgeprägte Hyperbilirubinämie könnte somit Ausdruck einer manifesten fibrosierenden cholestatischen Hepatitis sein und sollte Anlass dazu geben dies histologisch zu klären.

Die Auswertung der Initialfunktion bei lebertransplantierten Hepatitis-C-Patienten hinsichtlich der Assoziation mit der Fibroseentwicklung zeigt, dass die Wahrscheinlichkeit für einen beschleunigten Fibroseverlauf bei Patienten mit laborchemischen Zeichen einer Cholestase höher ist. Bei diesen Patienten sollte besonders in der ersten Woche nach OLT bei Auftreten von Cholestasezeichen eine Leberbiopsie erfolgen.

### 5.1.2 Weitere mit dem klinischen und histologischen Verlauf assoziierte Faktoren

Die Gesamtüberlebensrate der Patientenkohorte betrug 87,0% nach einem Jahr, 71,6% nach fünf Jahren, 62,3% nach 10 Jahren und 54,6% nach 15 Jahren. Das Transplantatüberleben betrug 81,9% nach einem Jahr, 64,3% nach fünf Jahren, 56,8% nach 10 Jahren und 48,7% nach 15 Jahren. In multivariater Analyse konnte zu den

bereits erwähnten Parametern der Initialfunktion lediglich für die Variable Spenderalter (> 34 Jahre) eine signifikante Korrelation für ein reduziertes Patienten- und Transplantatüberleben nachgewiesen werden.

Verglichen mit dem klinischen Verlauf HCV-negativer Patienten nach OLT zeigen HCV-Patienten nach OLT ein reduziertes Langzeitüberleben. Die 5-JÜR der Patienten mit chronischer Hepatitis C nach OLT beträgt im Vergleich zu Patienten mit anderen Grunderkrankungen trotz der hohen Rezidivrate 70-80% [40].

In einer großen multizentrischen Studie von Belli *et al.* mit 502 HCV-positiven Patienten wurden ähnliche Ergebnisse bezüglich des Patientenüberlebens mit Überlebensraten von 78,7% nach einem Jahr, 66,3% nach fünf Jahren und 58,6% nach zehn Jahren gezeigt [7].

Es ist bekannt, dass im Rahmen der Lebertransplantation bei Hepatitis-C-Patienten ein höheres Spenderalter mit dem Schweregrad der HCV-Reinfektion und einem reduzierten Transplantatüberleben einhergeht [63]. Transplantate älterer Patienten führten in der untersuchten Patientenkohorte zu einem reduzierten Patienten- und Transplantatüberleben. Anhand der Ergebnisse der Subgruppe Spenderfaktoren ließ sich zudem nachweisen, dass Transplantate älterer Spender signifikant mit der Inzidenz einer portalen Inflammation korrelierten, was eine Fibroseprogression innerhalb des ersten Jahres nach OLT begünstigte. Hingegen konnte bei Patienten, die ein Transplantat ohne Zeichen portaler Inflammation erhielten, keine Zirrhoseentwicklung oder das Versterben an den Folgen einer Hepatitis-C-Reinfektion beobachtet werden. Rayhill *et al.* konnten kürzlich in einer Studie mit 111 lebertransplantierten HCV-Patienten ebenfalls nachweisen, dass Transplantate älterer Spender mit einem höheren Risiko für eine beschleunigte Fibroseentwicklung und einem reduzierten Transplantatüberleben einhergehen [100]. Eine von Mutimer *et al.* an 4736 HCV-Patienten mit orthotoper Lebertransplantation durchgeführte Studie konnte ebenfalls ein reduziertes Patientenüberleben bei Transplantaten älterer Spender nachweisen. Allerdings lag der "Cut-off"-Wert für das Spenderalter bei 40 Jahren [78]. Der niedrigere "Cut-off"-Wert des Spenderalters der untersuchten Patientenkohorte lässt sich mit dem mittleren Alter der Patienten von 39 Jahren begründen.

In der multivariaten Analyse korrelierten signifikant ein Spenderalter > 34 Jahre und die Thrombozytenzahl mit der Entwicklung einer höhergradigen Fibrose. Die Anzahl der Thrombozyten drei Jahre nach OLT korrelierte mit der Entwicklung einer Leberzirrhose.

Fünf Jahre nach OLT war eine signifikante Korrelation zwischen der Entwicklung einer höhergradigen Fibrose und der Thrombozytenzahl in multivariater Analyse nachzuweisen. In univariater Analyse konnte für den Parameter TPZ eine signifikante Korrelation mit dem Auftreten einer höhergradigen Fibrose ein und fünf Jahre nach OLT und für das Auftreten einer Leberzirrhose ein und drei Jahre nach OLT nachgewiesen werden.

Der Einfluss des Spenderalters auf die Fibroseentwicklung ist in verschiedenen Studien bereits nachgewiesen worden [14, 22, 67, 87].

Die Thrombozytenzahl drei und fünf Jahre nach OLT war in der untersuchten Patientenkohorte mit der Entwicklung einer höhergradigen Fibrose assoziiert. Dies lässt sich durch die Tatsache erklären, dass drei und fünf Jahre nach OLT bereits 35,5% bzw. 45,8% der Patienten Zeichen einer höhergradigen Fibrose zeigten. Zum Zeitpunkt drei und fünf Jahre nach OLT kann deshalb davon ausgegangen werden, dass Patienten, die eine Thrombopenie aufweisen, ein erhöhtes Risiko für den Übergang in eine Leberzirrhose bieten, bzw. eine Leberzirrhose bereits besteht. Thrombozytopenien werden häufig bei Patienten mit fortgeschrittenen Lebererkrankungen beobachtet. Die Pathogenese der Thrombozytopenie ist multifaktoriell und beinhaltet einen erhöhten Abbau der Thrombozyten durch eine Splenomegalie, bedingt durch die portale Hypertension, einer myelosuppressiven Wirkung durch das Hepatitis-C-Virus und einer verminderten Bildung von Thrombopoietin durch die Leber [65, 76, 99]. Durch die Assoziation der Thrombozyten mit dem Fibroseverlauf ist zu erklären, weshalb ein Großteil der nicht-invasiven Messverfahren die Variable Thrombozytenzahl zur Prädiktion des Fibrorestadiums einsetzt [65]. Eine Assoziation zwischen einer beschleunigten Fibroseentwicklung und der Thrombozytenzahl konnte in der Studie von Metwally *et al.* beobachtet werden [76].

Die Thromboplastinzeit als Messparameter des extrinsischen Systems der Blutgerinnung ist ein Maß für die Syntheseleistung der Leber und ist besonders häufig im Rahmen schwerwiegender Leberinsuffizienz, wie sie bei der Leberzirrhose auftritt, pathologisch verändert. Im Rahmen der vorliegenden Studie konnte die signifikante Korrelation von TPZ, wie sie in einer Studie mit 109 Hepatitis-C-Patienten von Karoui *et al.* bereits berichtet wurde, mit einer beschleunigten Fibroseprogression nachgewiesen werden [58]. Die Studie von Qiu *et al.* bei 140 Patienten mit einer chronischen Hepatitis C

konnte eine signifikante Assoziation niedriger Werte für TPZ mit einer Leberzirrhose zeigen [96].

Im Rahmen dieser Studie konnte der Einfluss verschiedener Risikofaktoren auf den histologischen Verlauf bestätigt werden bzw. neue Einflussfaktoren identifiziert werden. Im Vergleich zu weiteren Studien, die die Einflussfaktoren auf die Fibroseprogression bei Hepatitis-C-Patienten untersuchten, wurde die Korrelation verschiedener Parameter mit dem Fibroseverlauf zu drei Zeitpunkten nach OLT (ein Jahr, drei und fünf Jahre) eruiert, um u.a. die Erstellung eines eigenen nicht-invasiven Messverfahrens zu ermöglichen.

Das Spenderalter bleibt einer der wichtigsten Spenderfaktoren nach OLT bei Patienten mit einer HCV-Infektion. Bei jüngeren Patienten sollte deshalb die Transplantation von Organen jüngerer Spender vorgenommen werden. Allerdings erscheint diese Möglichkeit bei der derzeitigen Limitierung geeigneter Spenderorgane schwer zu begründen.

## **5.2 Der histologische Verlauf**

Ein schwerwiegendes Problem stellt die Evaluation und Behandlung der steigenden Zahl an chronischen Hepatitis-C-Patienten dar [93]. Bei HCV-Patienten gilt die Leberbiopsie als Goldstandard für die Verlaufsbeobachtung chronischer Lebererkrankungen und einer Fibrose. Im Rahmen der Lebertransplantation sind das Vorliegen bzw. die Progression der Leberfibrose, die durch die Protokollbiopsien ermittelt werden, essentiell. Dies erlaubt Responderraten, Prognosen und Komplikationen bei Patienten mit einer HCV-Reinfektion bewerten zu können und verschiedene Behandlungsstrategien einzusetzen [8, 93, 119]. Eines der Hauptprobleme nach OLT stellt die Hepatitis-C-Reinfektion dar, die bei 30% der Patienten zur Entwicklung einer Leberzirrhose führt [127].

Die Fibroseprogression der 300 lebertransplantierten Patienten der vorliegenden Studie zeigte einen nicht-linearen Verlauf. Das mittlere Fibrorestadium der überlebenden Transplantatempfänger betrug 1.29 (0-4) nach einem Jahr, 1.82 (0-4) nach drei Jahren, 2.03 (0-4) nach fünf Jahren, 2.25 (0-4) nach sieben Jahren, 2.09 (0-4) nach zehn Jahren und 2.55 (1-3) nach zwölf Jahren post OLT. Besonders in den ersten drei Jahren fiel ein rapider und exponentieller Anstieg des mittleren Fibrorestadiums auf. Nach dem dritten Jahr zeigte der Verlauf einen fast linearen Verlauf mit deutlich

abgeschwächter Progression. Im Rahmen dieser Studie konnte festgestellt werden, dass in den ersten Wochen nach OLT besonders die Cholestaseparameter (u.a. Gesamtilirubin) eine wichtige Rolle als Risikofaktor im Kontext der Fibroseentwicklung einnehmen. Cholestatistische Verläufe in den ersten drei Jahren scheinen somit die Hauptursache für den raschen Anstieg des Fibrorestadiums zu sein. Es ist bekannt, dass ein Teil der Patienten mit einer Hepatitis-C-Reinfektion besonders aggressive Verläufe in Form einer fibrosierenden cholestatischen Hepatitis aufweist [30].

Besonders auffällig war allerdings die Tatsache, dass im zehnten Jahr nach OLT der Wert des mittleren Fibrorestadiums 2.09 (0-4) betrug, wohingegen der Wert des mittleren Fibrorestadiums sieben Jahre nach OLT bereits 2.25 (0-4) betragen hatte. Dies bedeutet, dass bei einem Teil der Patienten von einer Regression des Fibroseprozesses ausgegangen werden muss. Dies ist im Kontext mit der zu dem jeweiligen Zeitpunkt begonnen antiviralen Therapie zu sehen. Derzeit wird der Einfluss der anhaltenden serologischen Virusfreiheit auf den Fibroseverlauf untersucht. Manns *et al.* [73] konnten bei nicht-transplantierten Patienten mithilfe einer Interferon-Therapie eine Abnahme der fibrotischen Aktivität um 20% nach Eradikation darstellen. Bagra *et al.* [3] konnten erst kürzlich ähnliche Ergebnisse für Patienten nach Lebertransplantation aufzeigen. Bei den meisten Patienten, die eine Viruseradikation nach interferonbasierter Therapie aufwiesen, konnte eine Verlangsamung der Fibrose- und Entzündungsprogression nachgewiesen werden [3].

Es ist bekannt, dass die Fibroseprogression nach OLT im Vergleich zu immunkompetenten Patienten beschleunigt verläuft [11]. Neumann *et al.* konnten bereits nachweisen, dass die Fibroseprogression in den ersten drei Jahren nach OLT einen rapiden und exponentiellen Verlauf zeigt [87]. Walter *et al.* konnten erst kürzlich einen ebenfalls nicht-linearen Verlauf in einer retrospektiven Analyse von 105 lebertransplantierten Patienten mit einer Hepatitis-C-Reinfektion nachweisen. Allerdings zeigte der histologische Verlauf im Vergleich zur Fibroseprogression der Patientenkohorte in der vorliegenden Studie einen milderen Verlauf mit mittleren Fibrorestadien von 0.8 ein Jahr, 1.1 drei Jahre, 1.3 fünf Jahre und 1.5 zehn Jahre nach OLT [127]. Dies lässt sich darauf zurückführen, dass in der Studie von Walter *et al.* bei einem Großteil der Patienten (n=70, 66,6%) eine antivirale Therapie durchgeführt wurde.

Abschließend lässt sich feststellen, dass der histologische Verlauf nach OLT in den ersten drei Jahren nach OLT im Wesentlichen von cholestatischen Verläufen beeinflusst wird und unter einer postoperativen antiviralen Therapie eine abgeschwächte Fibroseprogression bzw. eine Regression des Fibrorestadiums möglich ist.

### **5.3 Subgruppe Spenderfaktoren**

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde bei einer der Subgruppen der Einfluss der spenderassoziierten Faktoren auf die Fibroseprogression und den klinischen Verlauf nach Lebertransplantation bei einer durch das Hepatitis-C-Virus induzierten Lebererkrankung im Endstadium evaluiert. Besonderen Wert wurde auf die Untersuchung der histologischen Qualität des Spenderorgans (ermittelt durch die 0-Biopsie) gelegt. Hierbei wurden die Entitäten intrahepatische Inflammation, Fibrose, nekrotische Hepatozyten und der Fettgehalt untersucht und mit dem klinischen sowie histologischen Verlauf nach OLT korreliert. Die Analyse der verschiedenen klinischen Spenderfaktoren zeigten eine signifikant höhere Inzidenz intrahepatischer Inflammation bei älteren Spendern (33 > Jahre durch ROC-Analysen), sowie Spendern mit einem langen Aufenthalt auf der Intensivstation vor Transplantation. Als weiterer signifikanter Risikofaktor für die Fibroseprogression nach OLT stellte sich eine portale Inflammation des Spenderleberparenchyms heraus. Bei Patienten, die ein Transplantat mit portaler Inflammation erhielten, ließ sich eine signifikant höhere Anzahl einer höhergradigen Fibrose innerhalb des ersten Jahres nach OLT nachweisen.

Zudem konnte gezeigt werden, dass die jährliche Fibroseprogressionsrate innerhalb des ersten Jahres nach Lebertransplantation bei Patienten mit einem Transplantat ohne Zeichen einer portalen Inflammation 0.8 betrug. Hingegen lag die Fibroseprogressionsrate bei Patienten mit Transplantaten, die Zeichen einer portalen Inflammation aufwiesen, deutlich höher (1.4).

Verschiedene Studien haben in der Vergangenheit den Einfluss von Risikofaktoren auf das Patienten- und Transplantatüberleben und den Verlauf der Hepatitis-C-Reinfektion untersucht. Hierbei konnte das Spenderalter als Risikofaktor für einen frühen Transplantatverlust und Tod des Patienten identifiziert werden [14, 67, 87]. Obwohl die Kenntnisse zum erhöhten Risiko für ein vermindertes Transplantatüberleben aufgrund des Risikofaktors Spenderalter spärlich sind, konnte im Rahmen dieser Studie gezeigt

werden, dass Spender mit einer langen Liegedauer auf der Intensivstation eine höhere Rate an intrahepatischer Inflammation aufwiesen. Ein Erklärungsansatz ist die von van der Hoeven *et al.* beschriebene Theorie, wonach neutrophile Granulozyten die Leber hirntoter Spender infiltrieren [123]. Bekannt ist, dass der Hirntod für die Induktion verschiedener immunologischer und inflammatorischer Abläufe im Spenderorgan verantwortlich ist [94, 115, 122].

Im Tiermodell konnte zudem die immuntriggernde Wirkung von Katecholamingaben bestätigt werden [122]. Es ist anzunehmen, dass Veränderungen der immunologischen Prozesse eine wichtige Einflussgröße für einen fulminanten Verlauf der HCV-Reinfektion darstellen.

Die Fibroseprogression bei Patienten mit einer Hepatitis-C-Reinfektion ist die maßgebende Variable für die Prognose des Transplantates nach OLT. Die Fibroseprogression zeigte in der Subgruppe der Patienten mit vorliegender 0-Biopsie nach Transplantation einer Spenderleber mit einer portalen Inflammation einen akzelerierten Verlauf.

Der natürliche Verlauf der chronischen Hepatitis C bei immunkompetenten Patienten zeigt per se einen langsamen Verlauf, wobei in der Vergangenheit eine Reihe verschiedener Faktoren identifiziert werden konnten, die mit einer raschen Progredienz der Erkrankung einhergehen können [9, 50]. Frühere Studien konnten einen beschleunigten Verlauf bei immunkomprimierten Patienten demonstrieren [13]. Einige Variablen wie Koinfektionen mit dem Hepatitis-B-Virus, Viruslast oder das HLA-Matching sind eindeutig mit dem Krankheitsverlauf nach der Transplantation assoziiert [10]. Faktoren aus dem präoperativen Umfeld wie die Histologie des Spenderorgans scheinen eine untergeordnete Rolle bei der Vorhersage des Verlaufes der HCV-Reinfektion zu spielen. Die dezidierte Evaluation der Spenderhistologie könnte somit großen Wert bei der Vorhersage des Krankheitsverlaufs bei transplantierten Hepatitis-C-Patienten besitzen.

Eine Festlegung von konkreten Spenderkriterien für die Lebertransplantation bei HCV-positiven Empfängern sollte dazu dienen die Langzeitergebnisse bezüglich der Fibroseprogression zu verbessern. Diese Kriterien sollten vor allem die Vermeidung von Transplantaten älterer Spender bei HCV-positiven Empfängern und von älteren Spendern mit einer langen Liegedauer auf der Intensivstation beinhalten. Außerdem sollte eine genaue histologische Aufarbeitung der Spenderlebern mit spezieller

Begutachtung einer möglichen portalen Inflammation durchgeführt werden. Beim HCV-Genotyp 1b werden bekanntlich aggressivere Verläufe und schlechte Ansprechraten auf eine antivirale Therapie beobachtet [12, 95]. Allerdings erscheint aufgrund des gravierenden Mangels von Spenderorganen eine exklusive Zuweisung bestimmter Transplantate an HCV-Patienten derzeit als schwer begründbar.

Jedoch wäre basierend auf den aktuellen und früheren Ergebnissen die Festlegung genauer Spenderkriterien für HCV-positive Empfänger indiziert, um den klinischen und histologischen Verlauf nach OLT zu optimieren. Dabei sollte besonderen Wert auf die Beurteilung der Spenderhistologie gelegt werden.

Als Hauptaussage der Untersuchung der Spenderkriterien bei lebertransplantierten HCV-Patienten lässt sich zusammenfassen, dass die Fibroseprogression innerhalb des ersten Jahres nach OLT bei Patienten, deren Spenderleber eine portale Inflammation aufwies, signifikant erhöht war. Hingegen konnte bei Patienten, die ein Transplantat ohne Zeichen einer portalen Inflammation erhielten, keine Zirrhoseentwicklung oder das Versterben an den Folgen einer Hepatitis-C-Reinfektion beobachtet werden. Bei älteren Spendern und Spendern mit langen Liegedauern auf der Intensivstation ließ sich in der 0-Biopsie eine signifikante Erhöhung des Vorkommens einer portalen Inflammation nachweisen. Diese Daten könnten dazu beitragen Spenderkriterien für HCV-Patienten zu etablieren und die Patienten im Vorfeld der OLT zu identifizieren, die in der Folge einen gravierenderen Verlauf der HCV-Reinfektion zeigen könnten.

#### **5.4 Subgruppe genetische Faktoren und Eisenstoffwechsel**

Die univariate Analyse konnte keine signifikante Korrelation mit dem Patienten- und Transplantatüberleben nach OLT sowie mit einer beschleunigten Fibroseentwicklung in den ersten fünf Jahren nach Lebertransplantation sowohl für die Genpolymorphismen als auch die Parameter des Eisenstoffwechsels (Eisen, Ferritin und Transferrin) nachweisen.

Eine Assoziation zwischen einer chronischen Hepatitis C Infektion und erhöhtem Serumeisen, sowie einem erhöhtem Eisengehalt der Leber ist seit der Erstbeschreibung durch Di Bisceglie *et al.* [28] bekannt. Überschüsse an Eisen sind ein wichtiger Risikofaktor für eine Schädigung der Leber. Sie führen über eine direkte Stimulation der Kollagenbiosynthese und der Bildung von Sauerstoffradikalen, welche für die Peroxidation von Phospholipiden, Oxidation von Aminosäuren, Provokation von DNA-

Strangbrüchen und Proteinfragmentation verantwortlich sind, zu einer verstärkten Leberfibrosierung [88]. Eine Aktivierung von-Kuppfer'scher Sternzellen mit Umwandlung in kollagenproduzierende Myofibroblasten scheint eine der möglichen Erklärungen [38].

Die Assoziation zwischen Hepatitis C und Mutationen im Hämochromatose-Gen HFE ist nicht eindeutig. Homozygote Mutationen (C282Y) im HFE-Gen werden vorwiegend bei Kaukasiern mit hereditärer Hämochromatose beobachtet. Verschiedene Studien konnten einen Zusammenhang zwischen HFE-Mutationen und durch eine HCV-Infektion hervorgerufene fortgeschrittene Lebererkrankungen beobachten [31, 41, 42, 72, 75, 111, 121], wohingegen andere Studien keine Assoziation nachweisen konnten [48, 49, 66, 68, 81, 90, 118].

Es gibt zwei mögliche Erklärungen, weshalb Mutationen im HFE-Gen nicht als Risikofaktor für eine beschleunigte Fibroseprogression in Frage kommen. Es ist generell bekannt, dass Patienten mit einer heterozygoten Mutation in C282Y und einer homozygoten Mutation in H63D keine Eisenüberladung entwickeln [120]. In der untersuchten Patientenkohorte Studie wies kein Patient eine homozygote Mutation in C282Y auf. Der Großteil der Patienten zeigte eine heterozygote Mutation in H63D. Die Eisenüberladung ist nicht die unbedingte Folge einer homozygoten Mutation in C282Y, da weniger als 100% der Patienten, die den Krankheitsgenotyp (HFE-282YY) tragen, biochemische Abnormalitäten oder eine Leberschädigung aufweisen. In einer populationsbasierten Studie wurde nur bei 50% der männlichen und 40% der weiblichen Patienten eine Transferrinsättigung über 50% als Ausdruck der Krankheit identifiziert [18]. Drei große populationsbasierte Studien fanden bei diesen Patienten eine geringe Penetranz für eine Leberschädigung, determiniert durch abnorme Leberfunktionstests oder klinische Symptome [18, 124, 125].

Die geringe Penetranz der HFE-Mutationen und die Tatsache, dass die heterozygote Mutation im HFE-Gen nicht mit einer Eisenüberladung assoziiert ist, erklären, weshalb in der untersuchten Patientenkohorte keine signifikante Korrelation mit einer beschleunigten Fibroseprogression nachzuweisen war. Die Mutation im HFE-Gen scheint somit keinen Einfluss auf den Schweregrad der HCV-Infektion zu besitzen.

Analog zur Rolle der Genpolymorphismen im HFE-Gen wird der Einfluss der Polymorphismen (-6G>A, M235T) im AGT-Gen auf die Entwicklung und den Schweregrad chronischer Lebererkrankungen kontrovers diskutiert. Es ist bekannt,

dass Angiotensinogen II für die Kontraktion und Proliferation hepatischer Sternzellen verantwortlich ist [131]. Zudem konnte *in vitro* nachgewiesen werden, dass Angiotensinogen II die Genexpression von TGF- $\beta_1$  und Kollagen-1 stimuliert [56, 74, 117]. Als fibrogenetisches Zytokin in der Genese der Fibrose aktiviert TGF- $\beta_1$  wiederum die hepatischen Sternzellen, welche für die Produktion extrazellulärer Matrix verantwortlich sind [92]. Eine Studie von Powell *et al.* mit 128 HCV-positiven Patienten konnte für Patienten mit einer homozygoten Mutation im Genpolymorphismus -6G>A eine signifikante Assoziation für die Entwicklung einer höhergradigen Fibrose aufzeigen [92]. Dies steht im Kontrast zur Studie von Forrest *et al.* mit 195 HCV-positiven Patienten, welche einen Genpolymorphismus in -6G>A oder M235T aufwiesen, bei denen allerdings keine signifikante Assoziation mit der Fibroseprogression identifiziert werden konnte [34]. Im Rahmen dieser Studie ließ sich ebenfalls keine signifikante Korrelation zwischen einem Genpolymorphismus im AGT-Gen und der Entwicklung einer Fibrose nachweisen, was den Ergebnissen von Forrest *et al.* gleicht. Verwunderlich erscheint, dass trotz der hohen Anzahl an Patienten mit einer homozygoten Mutation in einem der AGT-Gene (50 Patienten insgesamt) in der vorliegenden Studie keine beschleunigte Fibroseprogression zu beobachten war. Hierfür könnten zwei Erklärungen in Frage kommen. Im Rahmen dieser Studie wurde die antihypertensive Therapie bei Patienten mit einem arteriellen Hypertonus nicht berücksichtigt. Die Prävalenz der arteriellen Hypertonie in der westlichen Welt liegt bei etwa 15-20% der erwachsenen Bevölkerung. ACE-Hemmer werden u.a. bevorzugt bei Patienten mit einem Diabetes mellitus und einer Niereninsuffizienz verabreicht. Zudem sind in den letzten Jahren vermehrt Sartane (AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Blocker) zur Therapie des arteriellen Hypertonus eingesetzt worden [133]. Yoshiji *et al.* konnte im Tierexperiment bei Ratten nachweisen, dass die Verabreichung eines ACE-Hemmers bzw. eines Sartans die Progression der Leberfibrose hemmt [131]. In diesem Zusammenhang ist anzunehmen, dass ein Teil der Patienten, die einen arteriellen Hypertonus und einen Genpolymorphismus im AGT-Gen aufwiesen, bereits einer antihypertensiven Therapie zugeführt worden war. Ein wesentlicher Unterschied zu den Studien von Forrest *et al.* und Powell *et al.* ist die Tatsache, dass die Patienten in der vorliegenden Studie im postoperativen Verlauf nach durchgeführter Lebertransplantation untersucht wurden. Bei einer bereits vor der Lebertransplantation begonnenen antihypertensiven Therapie und einer homozygoten Mutation im AGT-Gen erscheint die Fibrosierung des Transplantates eher unwahrscheinlich. Eine weitere Erklärung für die fehlende

Korrelation der Polymorphismen im AGT-Gen mit einer beschleunigten Fibroseprogression könnte eine verminderte Penetranz der Erkrankung mit konsekutiv verminderter Produktion von Angiotensinogen II sein. Der Einfluss von Genpolymorphismen sollte deshalb im Rahmen einer prospektiven Studie bei Patienten ohne antihypertensive Therapie erfolgen, um den fibrogenetischen Einfluss von Genpolymorphismen im AGT-Gen zu eruieren.

## 5.5 Fibroseprädiktion mittels nicht-invasiver Messverfahren

Die aus der Patientenkohorte zum 1-, 3- und 5-Jahreszeitpunkt erhobenen biochemische Parameter, die mit der Entwicklung der verschiedenen Fibrorestadien (F3 - F4, F4) assoziiert waren, wurden mit dem Spenderalter kombiniert. Basierend auf den Ergebnissen der univariaten und multivariaten Analyse wurden mehrere nicht-invasive Messverfahren bestehend aus verschiedenen Routinelaborparametern und dem Spenderalter erstellt. Das optimale multivariable Modell wurde definiert als das Modell mit der größten AUC, ermittelt in der ROC-Analyse. Dieses Modell (DARFI) bestand aus den Variablen TPZ, AP, AST und dem Spenderalter. Eine höhergradige Fibrose bzw. die Entwicklung einer Leberzirrhose ein Jahr nach OLT konnte durch den DARFI mit AUCs von 0.824 und 0.939 am genauesten vorhergesagt werden. Eine höhergradige Fibrose zum 3-Jahreszeitpunkt wurde am genauesten durch den APRI (0.699) und eine Leberzirrhose durch den DARFI (0.912) vorhergesagt. Der API(s) besaß zum 5-Jahreszeitpunkt die höchste diagnostische Genauigkeit bei der Prädiktion einer höhergradigen Fibrose und einer Leberzirrhose mit AUCs von 0.679 und 0.806. Der DARFI zeigte ein Jahr nach OLT bei einem „Cut-off“-Wert > 7 eine Sensitivität von 100% mit einem negativen prädiktiven Wert von 100%, drei Jahre nach OLT eine Sensitivität von 85,5% mit einem negativen prädiktiven Wert von 99,0% und fünf Jahre nach OLT eine Sensitivität von 90,0% mit einem negativen prädiktiven Wert von 98,1% für die Erkennung einer Leberzirrhose.

Verschiedene Routinelaborparameter (einzeln oder in Kombination genutzt) sind als nicht-invasive Prädiktoren für die Fibroseentwicklung identifiziert worden. Zusätzlich konnten eine Reihe spezieller Fibrosemarker wie die Hyaluronsäure und weitere komplexere Tests bestehend aus  $\alpha_2$ -Makroglobulin, Apolipoprotein A1, Haptoglobin, Gesamtbilirubin und GGT (Fibrotest, Biopredictive, France) [51, 79] oder ein Algorhythmus bestehend aus Alter, Hyaluronsäure, aminoterminalem Peptid von Typ-III-Kollagen und dem Gewebshemmer der Matrix Metalloproteinase 1 [105] identifiziert

werden. Allerdings ist die Bereitstellung dieser Spezialmarker mit hohen Kosten verbunden und nicht überall möglich [65]. Deshalb wurden im Rahmen dieser Studie nur nicht-invasive Messverfahren untersucht, die Routinelaborparameter beinhalten.

Für die Variablen TPZ, AST und AP ist eine signifikante Korrelation mit der Fibroseprogression in mehreren Studien beobachtet worden. Die Thromboplastinzeit ist einer der ersten Marker für das Auftreten einer Leberzirrhose und repräsentiert die Syntheseleistung der Leber. Erhöhte Werte von AST sprechen für eine starke Schädigung von Hepatozyten und zeigen eine starke Assoziation mit einer Fibroseentwicklung [45]. AST vermag zudem die Aktivität und das Stadium einer HCV-Infektion wiederzugeben. Sie ist sowohl in den Mitochondrien als auch im Zytoplasma von Hepatozyten nachzuweisen [8]. Die alkalische Phosphatase ist infolge cholestatischer Vorgänge erhöht und spielt ebenfalls einen wichtigen Part in der Fibroseentstehung [45]. Das Spenderalter ist zweifellos einer der wichtigsten Risikofaktoren für eine beschleunigte Fibroseprogression bei lebertransplantierten HCV-Patienten [14, 22, 67, 87]. Die Modifikation der publizierten nicht-invasiven Messverfahren, die den Parameter Alter nutzen (AP, Forns), bewirkte eine Optimierung der Vorhersagewahrscheinlichkeit.

Der DARFI zeigte zum Zeitpunkt ein Jahr nach Transplantation deutlich höhere Vorhersagewerte für die Prädiktion einer höhergradigen Fibrose sowie für eine Leberzirrhose als die restlichen getesteten nicht-invasiven Messverfahren. Lediglich der APRI konnte im ersten Jahr nach OLT annähernd gute Werte wie der DARFI mit AUCs von 0.750 für die Prädiktion einer höhergradigen Fibrose und 0.871 für die Prädiktion einer Leberzirrhose erzielen. Ähnliche Ergebnisse konnten im Rahmen einer Studie von Lackner *et al.* erhoben werden, in der bei 211 Patienten mit einer HCV-Infektion die AUCs von APRI, API und CDS untersucht wurden. Für den APRI konnte im Rahmen der erwähnten Studie eine AUC von 0.90 für das Vorliegen einer Leberzirrhose berechnet werden [65]. Ähnlich hohe Vorhersagewerte konnten zudem bei der Erstbeschreibung von APRI durch Wai *et al.* veröffentlicht werden. Die AUC bezüglich der Prädiktion einer Leberzirrhose lag bei 0.89 [126]. Benlloch *et al.* entwickelten im Rahmen einer Studie an 188 Hepatitis-C-Patienten mit OLT ebenfalls ein nicht-invasives Messverfahren, welches den Parameter TPZ enthielt. Allerdings erfolgte mithilfe dieses nicht-invasiven Messverfahren die Berechnung der Vorhersagewerte

(AUC 0.80) für die Stadien der signifikanten Fibrose (F2 – 4), weshalb ein direkter Vergleich mit dem DARFI nicht möglich ist [8].

An ein ideales nicht-invasives Messverfahren werden verschiedene Ansprüche gestellt. Gefordert wird u.a. eine Leberspezifität, die Nichtinvasivität, eine leichte Handhabung, Messungen durch sensitive, reproduzierbare und schnelle Methodik, Unabhängigkeit von Veränderungen der Leber- und Nierenfunktion sowie der Funktion des retikuloendothelialen Systems und der Einsatz im natürlichen Umfeld bzw. bei Patienten mit einer antiviralen Therapie [45]. Der in dieser Studie entwickelte DARFI erfüllt annähernd alle Anforderungen an einen idealen Marker. Die Vorteile des im Rahmen dieser Studie entwickelten nicht-invasiven Messverfahren liegen in der Verfügbarkeit der Laborparameter, da es sich bei allen Parametern um Routinelaborparameter handelt und der überaus hohen Vorhersagekraft bezüglich des Auftretens einer Leberzirrhose über mehrere Jahre nach OLT. Der Parameter Spenderalter setzt allerdings den Einsatz des Messverfahrens im Verlauf bei lebertransplantierten Patienten voraus. Weiterhin zeigte der DARFI für die Prädiktion einer Leberzirrhose bloß einen positiven prädiktiven Wert von 23,5% nach einem Jahr, 18,2% nach drei Jahren und 20,5% nach fünf Jahren für einen „Cut-off“-Wert > 6 bzw. 7. Dieser gibt an, wie viele Personen, bei denen eine Leberzirrhose mittels DARFI festgestellt wurde, auch tatsächlich krank sind.

Kritisch bezüglich des Studiendesign der Untersuchung ist anzumerken, dass es sich um eine retrospektive Datenanalyse handelte. Aus diesem Grunde waren bei einem Teil der Patienten einige Laborwerte nicht vorhanden. Die nicht-invasiven Messverfahren und der neu erstellte DARFI konnten somit nur bei 146 Patienten nach einem Jahr, 130 Patienten nach drei Jahren und 90 Patienten nach fünf Jahren angewandt werden. Zudem konnte nicht wie bei Metwally *et al.* eine Patientenkohorte analysiert werden, in der kein Patient vorab mit Interferon therapiert worden war. Der Einschluss antiviral behandelter Patienten könnte nämlich die Vorhersagekraft von DARFI und der anderen nicht-invasiven Messverfahren durch den Einfluss auf die Transaminasen eingeschränkt haben. Allerdings wäre ohne die gemeinsame Betrachtung aller Patienten die Anwendung aller nicht-invasiven Messverfahren nicht möglich gewesen. Aus diesem Grunde sollte anhand prospektiver Studien die Aussagekraft von DARFI validiert werden.

Einer der Hauptunterschiede zu den bereits veröffentlichten Studien zur Prädiktion der Fibrosestadien durch nicht-invasive Messverfahren war die Untersuchung der Messverfahren im postoperativen Verlauf nach OLT und die Validierung zu den Zeitpunkten drei und fünf Jahre nach OLT, die bislang in dieser Form nicht erfolgt ist. Allerdings zeigten sämtliche nicht-invasive Messverfahren im Vergleich zum ersten Jahr deutlich reduzierte Vorhersagewerte in den Jahren drei und fünf nach OLT. Ausschließlich die Prädiktion einer Leberzirrhose lieferte relativ zufriedenstellende Ergebnisse. Dies könnte mit dem histologischen Verlauf nach OLT zusammenhängen, der ungefähr erst nach drei Jahren eine im Vergleich zu den ersten drei Jahren nach OLT moderaten Fibroseverlauf aufweist. Eine Unterscheidung der verschiedenen Fibrosestadien mithilfe nicht-invasiver Messverfahren erscheint deshalb zu diesen Zeitpunkten nur schwer möglich. Vielleicht könnte der gleichzeitige Einsatz von bildgebenden Verfahren dieses Problem beheben. Drei und fünf Jahre nach OLT zeigten die Messverfahren APRI bzw. API(s) die besten Vorhersagewerte für eine höhergradige Fibrose. Dies könnte daran liegen, dass in der Patientenkohorte die Thrombozytenzahl in der multivariaten Analyse drei und fünf Jahre nach OLT mit einer höhergradigen Fibrose signifikant korrelierte und beide Messverfahren diesen Parameter aufweisen. Zum Zeitpunkt drei und fünf Jahre nach OLT scheint somit die Thrombopenie einen wesentlich stärkeren prognostischen Wert für das Fibrosestadium als die TPZ zu besitzen. Eine Erweiterung von DARFI um den Parameter Thrombozytenzahl sollte deshalb in Zukunft erwogen werden.

Die Ergebnisse nicht-invasiver ultraschallbasierter Messverfahren („Fibroscan“) und anderer bildgebender Messverfahren („Nanoimaging“) sind als sehr überzeugend einzustufen. Ihre Vorteile liegen in einer relativ kostengünstigen Nutzung und die mehr oder weniger direkte Beurteilung des Fibrosegehaltes. Nachteile sind derzeit noch die ungenaue Unterscheidung zwischen Fibrose und Steatose [104]. In weiteren prospektiven Studien könnte deshalb der parallele Einsatz von DARFI und einem bildgebenden nicht-invasiven Messverfahren zur Fibroseprädiktion getestet werden.

Als wichtigste Erkenntnis zur Anwendung nicht-invasiver Messverfahren zur Prädiktion des Fibroseverlaufes nach OLT lässt sich formulieren, dass jedes nicht-invasive Messverfahren, das die Variable Alter aufweist, durch den Einsatz des Spenderalters deutlich höhere Vorhersagewerte erreichen kann. Der im Rahmen dieser Studie entwickelte DARFI zeigte im direkten Vergleich aller nicht-invasiven Messverfahren zum

1-Jahreszeitpunkt die besten Vorhersagewerte in Hinsicht auf die Prädiktion einer höhergradigen Fibrose und einer Leberzirrhose. Jedoch sollte dieser im Rahmen einer prospektiven Studie validiert werden, sowie zusätzlich versucht werden sollte die Vorhersagekraft und den positiven prädiktiven Wert durch Einsatz zusätzlicher bildgebender nicht-invasiver Messverfahren zu optimieren.

Aufgrund der Ergebnisse zu den nicht-invasiven Messverfahren lässt sich derzeit am Status der Leberbiopsie als Goldstandard in der Verlaufsbeobachtung von Hepatitis-C-Patienten, besonders nach OLT, nichts ändern. Nicht-invasive Messverfahren wie der DARFI können im ersten Jahr nach OLT bei einem Teil der Patienten eine Leberbiopsie vermeiden, in Grenzfällen sollte allerdings trotz der Komplikationen der Biopsie immer eine Leberbiopsie durchgeführt werden.

## 6 Zusammenfassung

In den westlichen Industriestaaten ist das Endstadium der chronischen Hepatitis-C-Infektion mit ihren Komplikationen (Leberzirrhose, HCC) die häufigste Indikation für eine orthotope Lebertransplantation [73]. Das Hauptproblem stellt die Hepatitis-C-Reinfektion dar, die universell nach Reperfusion des Transplantates auftritt [40].

Ziele dieser retrospektiven Studie waren die Analyse der Fibroseprogression nach OLT bei Hepatitis-C-Patienten basierend auf Protokollleberbiopsien, die Eruiierung der Faktoren (postoperative Initialfunktion des Transplantates, spenderassoziierte Parameter, wirtsspezifische Parameter, Genpolymorphismen im HFE- und AGT-Gen), die den klinischen (Patienten- und Transplantatüberleben) und histologischen (Fibroseprogression) Verlauf signifikant beeinflussen, der Vergleich der Vorhersagewerte der derzeit verfügbaren nicht-invasiven Messverfahren (AAR, API, APR, APRI, CDS, FI, Forns Score, Pohl Score) auf Basis von Routinelaborparametern und die Entwicklung eines neuen nicht-invasiven Messverfahrens auf der Basis von Routinelaborparametern und trivialer Spender- bzw. Empfängerdaten in Ergänzung zur Leberbiopsie in der Diagnostik des Fibroseverlaufs nach OLT.

Signifikante Risikofaktoren für ein reduziertes Patientenüberleben waren ein Spenderalter > 34 Jahre, Gesamtbilirubin, GGT, die Leukozytenzahl und Thrombozytenzahl in den ersten Wochen nach OLT. Eine signifikante Korrelation bezüglich eines verminderten Transplantatüberlebens konnte bei einem Spenderalter > 34 Jahre, für den Gallefluss, AST, AST/ALT-Ratio, Gesamtbilirubin, GGT, AP und die Leukozytenzahl in den ersten Wochen nach OLT beobachtet werden.

Die Fibroseprogression zeigte einen nicht-linearen Verlauf. Zum 3-Jahreszeitpunkt nach OLT wurde für ein Spenderalter > 34 Jahre und die Thrombozytenzahl eine signifikante Korrelation mit der Entwicklung einer höhergradigen Fibrose beobachtet. Eine signifikante Korrelation mit der Entwicklung einer Leberzirrhose drei Jahre nach OLT bzw. einer höhergradigen Fibrose fünf Jahre nach OLT bestand für die Thrombozytenzahl.

Das im Rahmen dieser Studie entwickelte nicht-invasive Messverfahren (DARFI) bestand aus den Variablen TPZ, AP, AST und dem Spenderalter. Eine höhergradige Fibrose bzw. die Entwicklung einer Leberzirrhose ein Jahr nach OLT konnte durch DARFI am genauesten vorhergesagt werden. Eine höhergradige Fibrose wurde am

genauesten durch den APRI und eine Leberzirrhose durch DARFI vorhergesagt. Der API(s) besaß zum 5-Jahreszeitpunkt die höchste diagnostische Genauigkeit bei der Prädiktion einer höhergradigen Fibrose und einer Leberzirrhose.

Alle Patienten, deren Spenderleber eine histologisch nachgewiesene portale Inflammation aufwies, entwickelten eine höhergradige Fibrose innerhalb des ersten Jahres nach der Lebertransplantation.

Die univariate Analyse konnte keine signifikante Korrelation mit dem Patienten- und Transplantatüberleben nach OLT sowie mit einer beschleunigten Fibroseentwicklung für die untersuchten Genpolymorphismen im HFE- bzw. AGT-Gen nachweisen.

Abschließend lässt sich sagen, dass der Ersatz der Variable Empfängeralter durch die Variable Spenderalter die Vorhersagewahrscheinlichkeit der etablierten nicht-invasiven Messverfahren optimieren kann und der im Rahmen dieser Studie entwickelte DARFI allen anderen getesteten nicht-invasiven Messverfahren zum Zeitpunkt ein Jahr nach OLT überlegen war. Cholestatische Verläufe in den ersten Wochen nach OLT sind einer der wichtigsten Einflussfaktoren auf ein reduziertes Patientenüberleben zu sein.

Zusammenfassend konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass eine Prädiktion des Verlaufes der Reinfektionshepatitis nach OLT gut möglich ist und Faktoren, die den Verlauf der Reinfektion und somit den histologischen Verlauf maßgeblich bestimmen identifizierbar sind. Aufbauend auf dieser Erkenntnis sind nun weitere klinische Untersuchungen nötig, um hinsichtlich der Behandlung der Reinfektionshepatitis weitere Fortschritte zu erzielen. Ziel dabei könnte, aufbauend auf den hier gezeigten Daten, die Identifikation von Patienten sein, welche von einer antiviralen Therapie profitieren.

## 7 Literaturverzeichnis

1. 1994. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. The French METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology* 20: 15-20.
2. Bahra M, Neumann UI, Jacob D, et al. 2005. MMF and calcineurin taper in recurrent hepatitis C after liver transplantation: impact on histological course. *Am J Transplant* 5: 406-11.
3. Bahra M, Neumann UP, Jacob D, et al. 2007. Fibrosis progression in hepatitis C positive liver recipients after sustained virologic response to antiviral combination therapy (interferon-ribavirin therapy). *Transplantation* 83: 351-3.
4. Bahra M, Neumann UP, Jacob D, et al. 2005. Repeated steroid pulse therapies in HCV-positive liver recipients: significant risk factor for HCV-related graft loss. *Transplant Proc* 37: 1700-2.
5. Bataller R, North KE, Brenner DA. 2003. Genetic polymorphisms and the progression of liver fibrosis: a critical appraisal. *Hepatology* 37: 493-503.
6. Bedossa P, Poynard T. 1996. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology* 24: 289-93.
7. Belli LS, Burroughs AK, Burra P, et al. 2007. Liver transplantation for HCV cirrhosis: improved survival in recent years and increased severity of recurrent disease in female recipients: results of a long term retrospective study. *Liver Transpl* 13: 733-40.
8. Benlloch S, Berenguer M, Prieto M, et al. 2005. Prediction of fibrosis in HCV-infected liver transplant recipients with a simple noninvasive index. *Liver Transpl* 11: 456-62.
9. Benvegna L, Gios M, Boccato S, Alberti A. 2004. Natural history of compensated viral cirrhosis: a prospective study on the incidence and hierarchy of major complications. *Gut* 53: 744-9.
10. Berenguer M. 2002. Natural history of recurrent hepatitis C. *Liver Transpl* 8: S14-8.
11. Berenguer M. 2007. Management of hepatitis C virus in the transplant patient. *Clin Liver Dis* 11: 355-76.

12. Berenguer M, Ferrell L, Watson J, et al. 2000. HCV-related fibrosis progression following liver transplantation: increase in recent years. *J Hepatol* 32: 673-84.
13. Berenguer M, Lopez-Labrador FX, Wright TL. 2001. Hepatitis C and liver transplantation. *J Hepatol* 35: 666-78.
14. Berenguer M, Prieto M, San Juan F, et al. 2002. Contribution of donor age to the recent decrease in patient survival among HCV-infected liver transplant recipients. *Hepatology* 36: 202-10.
15. Berg T, Hopf U, Bechstein WO, et al. 1998. Pretransplant virological markers hepatitis C virus genotype and viremia level are not helpful in predicting individual outcome after orthotopic liver transplantation. *Transplantation* 66: 225-8.
16. Berg T. HU. 2001. Therapie der Hepatitis C-Virus(HCV)-Infektion. *Therapie der Hepatitis C-Virus(HCV)-Infektion*. Berlin, Deutschland: Blackwell Wissenschafts-Verlag
17. Beutler E. 2006. Hemochromatosis: genetics and pathophysiology. *Annu Rev Med* 57: 331-47.
18. Beutler E, Felitti VJ, Koziol JA, et al. 2002. Penetrance of 845G--> A (C282Y) HFE hereditary haemochromatosis mutation in the USA. *Lancet* 359: 211-8.
19. Bianchi L, Denk H, Stolte M, Walch A, Riede UN. 2004. Hepatopankreatisches System. *Hepatopankreatisches System*. Stuttgart, Deutschland: Georg Thieme Verlag
20. Brillanti S, Vivarelli M, De Ruvo N, et al. 2002. Slowly tapering off steroids protects the graft against hepatitis C recurrence after liver transplantation. *Liver Transpl* 8: 884-8.
21. Brown RS. 2005. Hepatitis C and liver transplantation. *Nature* 436: 973-8.
22. Burak KW, Kremers WK, Batts KP, et al. 2002. Impact of cytomegalovirus infection, year of transplantation, and donor age on outcomes after liver transplantation for hepatitis C. *Liver Transpl* 8: 362-9.
23. Burton JR, Jr., Rosen HR. 2006. Acute rejection in HCV-infected liver transplant recipients: The great conundrum. *Liver Transpl* 12: S38-47.
24. Cales P, Oberti F, Michalak S, et al. 2005. A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis. *Hepatology* 42: 1373-81.

25. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, et al. 1989. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 244: 359-62.
26. Colletta C, Smirne C, Fabris C, et al. 2005. Value of two noninvasive methods to detect progression of fibrosis among HCV carriers with normal aminotransferases. *Hepatology* 42: 838-45.
27. Cotler SJ, Kallwitz E, TenCate V, et al. 2007. Diabetes and hepatic oxidative damage are associated with hepatitis C progression after liver transplantation. *Transplantation* 84: 587-91.
28. Di Bisceglie AM, Axiotis CA, Hoofnagle JH, Bacon BR. 1992. Measurements of iron status in patients with chronic hepatitis. *Gastroenterology* 102: 2108-13.
29. Dienes HP, Dries V. 2001. Pathologie der Hepatitis C. *Pathologie der Hepatitis C*. Berlin, Deutschland: Blackwell Wissenschafts-Verlag
30. Dixon LR, Crawford JM. 2007. Early histologic changes in fibrosing cholestatic hepatitis C. *Liver Transpl* 13: 219-26.
31. Erhardt A, Maschner-Olberg A, Mellenthin C, et al. 2003. HFE mutations and chronic hepatitis C: H63D and C282Y heterozygosity are independent risk factors for liver fibrosis and cirrhosis. *J Hepatol* 38: 335-42.
32. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, et al. 1996. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 13: 399-408.
33. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, et al. 2002. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology* 36: 986-92.
34. Forrest EH, Thorburn D, Spence E, et al. 2005. Polymorphisms of the renin-angiotensin system and the severity of fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 12: 519-24.
35. Foxton MR, Quaglia A, Muiesan P, et al. 2006. The impact of diabetes mellitus on fibrosis progression in patients transplanted for hepatitis C. *Am J Transplant* 6: 1922-9.
36. Frilling A. LH, Malagó M., Broelsch C.E. 2001. HCV-Infektion und Organtransplantation. *HCV-Infektion und Organtransplantation*. Berlin: Blackwell Wissenschafts-Verlag

37. G Löffler. 2003. DNA und Gentechnik. *DNA und Gentechnik*. Berlin, Deutschland: Springer Verlag
38. Galli A, Svegliati-Baroni G, Ceni E, et al. 2005. Oxidative stress stimulates proliferation and invasiveness of hepatic stellate cells via a MMP2-mediated mechanism. *Hepatology* 41: 1074-84.
39. Gane E. 2003. The natural history and outcome of liver transplantation in hepatitis C virus-infected recipients. *Liver Transpl* 9: S28-34.
40. Gane EJ, Portmann BC, Naoumov NV, et al. 1996. Long-term outcome of hepatitis C infection after liver transplantation. *N Engl J Med* 334: 815-20.
41. Gehrke SG, Stremmel W, Mathes I, et al. 2003. Hemochromatosis and transferrin receptor gene polymorphisms in chronic hepatitis C: impact on iron status, liver injury and HCV genotype. *J Mol Med* 81: 780-7.
42. Geier A, Reugels M, Weiskirchen R, et al. 2004. Common heterozygous hemochromatosis gene mutations are risk factors for inflammation and fibrosis in chronic hepatitis C. *Liver Int* 24: 285-94.
43. Ghobrial RM, Steadman R, Gornbein J, et al. 2001. A 10-year experience of liver transplantation for hepatitis C: analysis of factors determining outcome in over 500 patients. *Ann Surg* 234: 384-93; discussion 393-4.
44. Gordon R.D. IS, Esquivel C.O., Makowka L., Tzakis A.G., Todo S., Strazl T.E. 1988. Liver transplantation. *Liver transplantation*. Philadelphia: J. B. Lippincott Company
45. Grigorescu M. 2006. Noninvasive biochemical markers of liver fibrosis. *J Gastrointestin Liver Dis* 15: 149-59.
46. Halangk J. BT, Puhl G., Müller T., Landt O., Wiedenmann B., Neuhaus P., Luck W., Witt, H. Evaluation von Angiotensinogen Polymorphismen als mögliche genetische Risikofaktoren für Entwicklung und Schweregrad chronischer Lebererkrankungen unterschiedlicher Ätiologie.
47. Häussinger D, Niederau C. 2001. Hepatitis C. *Hepatitis C*. Berlin: Blackwell Wissenschafts-Verlag
48. Hezode C, Cazeneuve C, Coue O, et al. 1999. Liver iron accumulation in patients with chronic active hepatitis C: prevalence and role of hemochromatosis gene mutations and relationship with hepatic histological lesions. *J Hepatol* 31: 979-84.

49. Hohler T, Leininger S, Kohler HH, et al. 2000. Heterozygosity for the hemochromatosis gene in liver diseases--prevalence and effects on liver histology. *Liver* 20: 482-6.
50. Hu KQ, Kyulo NL, Esrailian E, et al. 2004. Overweight and obesity, hepatic steatosis, and progression of chronic hepatitis C: a retrospective study on a large cohort of patients in the United States. *J Hepatol* 40: 147-54.
51. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, et al. 2001. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet* 357: 1069-75.
52. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, et al. 1995. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 22: 696-9.
53. Jochum C, Gerken G, Reiser M., Schmiegel W. 2004. *Virushepatitis. Virushepatitis*. München Jena, Deutschland: Urban & Fischer
54. KP Maier. 2001. Klinik und Verlauf der HCV-Infektion. *Klinik und Verlauf der HCV-Infektion*. Berlin, Deutschland: Blackwell Wissenschafts-Verlag
55. Kaefer V. RK. 2001. Antiphlogistika und Immuntherapeutika. *Antiphlogistika und Immuntherapeutika*. München, Deutschland: Urban & Fischer
56. Kagami S, Border WA, Miller DE, Noble NA. 1994. Angiotensin II stimulates extracellular matrix protein synthesis through induction of transforming growth factor-beta expression in rat glomerular mesangial cells. *J Clin Invest* 93: 2431-7.
57. Kamal SM. 2007. Improving outcome in patients with hepatitis C virus genotype 4. *Am J Gastroenterol* 102: 2582-8.
58. Karoui S, Taieb Jomni M, Bellil K, et al. 2007. [Predictive factors of fibrosis for chronic viral hepatitis C]. *Tunis Med* 85: 454-60.
59. Kneteman NM. 2001. Steroid-free immunosuppression: balancing efficacy and toxicity. *Liver Transpl* 7: 698-700.
60. Kuntz E, Kuntz H. 1998. Leberbiopsie und Laparoskopie. *Leberbiopsie und Laparoskopie*. Heidelberg/Leipzig, Deutschland: Johann Ambrosius Barth Verlag
61. Kuntz E, Kuntz H. 1998. Leberzirrhose. *Leberzirrhose*. Heidelberg/Leipzig, Deutschland: Johann Ambrosius Barth Verlag
62. Kuntz E, Kuntz H. 1998. Praktische Hepatologie Historie-Morphologie-Biochemie-Diagnostik-Klinik-Therapie. *Praktische Hepatologie Historie-*

- Morphologie-Biochemie-Diagnostik-Klinik-Therapie*. Heidelberg/Leipzig: Johann Ambrosius Barth Verlag
63. Kuo A, Terrault NA. 2006. Management of hepatitis C in liver transplant recipients. *Am J Transplant* 6: 449-58.
  64. Kuo G, Choo QL, Alter HJ, et al. 1989. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 244: 362-4.
  65. Lackner C, Struber G, Liegl B, et al. 2005. Comparison and validation of simple noninvasive tests for prediction of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 41: 1376-82.
  66. Ladero JM, Ropero P, Ortega L, et al. 2003. [HFE gene mutations, hepatic iron content, and histological severity in hepatitis C virus-induced chronic hepatitis]. *Rev Esp Enferm Dig* 95: 829-36.
  67. Lake JR, Shorr JS, Steffen BJ, et al. 2005. Differential effects of donor age in liver transplant recipients infected with hepatitis B, hepatitis C and without viral hepatitis. *Am J Transplant* 5: 549-57.
  68. Lal P, Fernandes H, Koneru B, et al. 2000. C282Y mutation and hepatic iron status in hepatitis C and cryptogenic cirrhosis. *Arch Pathol Lab Med* 124: 1632-5.
  69. Lalouel JM, Rohrwasser A, Terreros D, et al. 2001. Angiotensinogen in essential hypertension: from genetics to nephrology. *J Am Soc Nephrol* 12: 606-15.
  70. Lammert F. MS. 2004. Angeborene Stoffwechselerkrankungen. *Angeborene Stoffwechselerkrankungen*. München Jena, Deutschland: Urban & Fischer
  71. Langrehr JM, Puhl G, Bahra M, et al. 2006. Influence of donor/recipient HLA-matching on outcome and recurrence of hepatitis C after liver transplantation. *Liver Transpl* 12: 644-51.
  72. Mah YH, Kao JH, Liu CJ, et al. 2005. Prevalence and clinical implications of HFE gene mutations (C282Y and H63D) in patients with chronic hepatitis B and C in Taiwan. *Liver Int* 25: 214-9.
  73. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. 2001. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 358: 958-65.

74. Marshall RP, McAnulty RJ, Laurent GJ. 2000. Angiotensin II is mitogenic for human lung fibroblasts via activation of the type 1 receptor. *Am J Respir Crit Care Med* 161: 1999-2004.
75. Martinelli AL, Franco RF, Villanova MG, et al. 2000. Are haemochromatosis mutations related to the severity of liver disease in hepatitis C virus infection? *Acta Haematol* 102: 152-6.
76. Metwally MA, Zein CO, Zein NN. 2007. Predictors and noninvasive identification of severe liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 52: 582-8.
77. Mondry A, Loh M, Liu P, et al. 2005. Polymorphisms of the insertion / deletion ACE and M235T AGT genes and hypertension: surprising new findings and meta-analysis of data. *BMC Nephrol* 6: 1.
78. Mutimer DJ, Gunson B, Chen J, et al. 2006. Impact of donor age and year of transplantation on graft and patient survival following liver transplantation for hepatitis C virus. *Transplantation* 81: 7-14.
79. Myers RP, De Torres M, Imbert-Bismut F, et al. 2003. Biochemical markers of fibrosis in patients with chronic hepatitis C: a comparison with prothrombin time, platelet count, and age-platelet index. *Dig Dis Sci* 48: 146-53.
80. N Frickhofen. 2004. Anämien und Störungen des Eisensoffwechsels. *Anämien und Störungen des Eisensoffwechsels*. München Jena, Deutschland: Urban & Fischer
81. Negro F, Samii K, Rubbia-Brandt L, et al. 2000. Hemochromatosis gene mutations in chronic hepatitis C patients with and without liver siderosis. *J Med Virol* 60: 21-7.
82. Neuhaus P, Bechstein WO, Lefebvre B, et al. 1989. Effect of aprotinin on intraoperative bleeding and fibrinolysis in liver transplantation. *Lancet* 2: 924-5.
83. Neuhaus P, Blumhardt G, Bechstein WO, et al. 1990. Side-to-side anastomosis of the common bile duct is the method of choice for biliary tract reconstruction after liver transplantation. *Transplant Proc* 22: 1571.
84. Neuhaus P, Blumhardt G, Bechstein WO, et al. 1994. Technique and results of biliary reconstruction using side-to-side choledochocholedochostomy in 300 orthotopic liver transplants. *Ann Surg* 219: 426-34.

85. Neuhaus P, Blumhardt G., Bechstein W.O., Platz K.P., Jonas S., Müller A.R., Langrehr J.M., Lohmann R., Schattenfroh N., Knoop M., Keck H., Lemmens P., Raakow R., Lüsebrink R., Slama K.P., Lobeck H., Hopf U. 1995. Comparison of FK 506- and cyclosporin-based immunosuppression in primary orthotopic liver transplantation. *Transplantation* 59: 31-40.
86. Neumann UP, Berg T, Bahra M, et al. 2004. Long-term outcome of liver transplants for chronic hepatitis C: a 10-year follow-up. *Transplantation* 77: 226-31.
87. Neumann UP, Berg T, Bahra M, et al. 2004. Fibrosis progression after liver transplantation in patients with recurrent hepatitis C. *J Hepatol* 41: 830-6.
88. Nieto N, Friedman SL, Cederbaum AI. 2002. Stimulation and proliferation of primary rat hepatic stellate cells by cytochrome P450 2E1-derived reactive oxygen species. *Hepatology* 35: 62-73.
89. Pietrangelo A. 2006. Hereditary hemochromatosis. *Biochim Biophys Acta* 1763: 700-10.
90. Pirisi M, Scott CA, Avellini C, et al. 2000. Iron deposition and progression of disease in chronic hepatitis C. Role of interface hepatitis, portal inflammation, and HFE missense mutations. *Am J Clin Pathol* 113: 546-54.
91. Pohl A, Behling C, Oliver D, et al. 2001. Serum aminotransferase levels and platelet counts as predictors of degree of fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol* 96: 3142-6.
92. Powell EE, Edwards-Smith CJ, Hay JL, et al. 2000. Host genetic factors influence disease progression in chronic hepatitis C. *Hepatology* 31: 828-33.
93. Poynard T, Imbert-Bismut F, Munteanu M, et al. 2004. Overview of the diagnostic value of biochemical markers of liver fibrosis (FibroTest, HCV FibroSure) and necrosis (ActiTest) in patients with chronic hepatitis C. *Comp Hepatol* 3: 8.
94. Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, et al. 1999. Brain death and its influence on donor organ quality and outcome after transplantation. *Transplantation* 67: 343-8.
95. Prieto M, Berenguer M, Rayon JM, et al. 1999. High incidence of allograft cirrhosis in hepatitis C virus genotype 1b infection following transplantation: relationship with rejection episodes. *Hepatology* 29: 250-6.

96. Qiu Y, Hoshida Y, Kato N, et al. 2004. A simple combination of serum type IV collagen and prothrombin time to diagnose cirrhosis in patients with chronic active hepatitis C. *Hepato Res* 30: 214-220.
97. R Dörries. 2002. Allgemeine Virologie. *Allgemeine Virologie*. Stuttgart, Deutschland: Georg Thieme Verlag
98. R Dörries. 2002. Spezielle Virologie. *Spezielle Virologie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag
99. Ramadori G NW, Sauerbruch T. 2004. Leberzirrhose. *Leberzirrhose*. München Jena, Deutschland: Urban & Fischer
100. Rayhill SC, Wu YM, Katz DA, et al. 2007. Older donor livers show early severe histological activity, fibrosis, and graft failure after liver transplantation for hepatitis C. *Transplantation* 84: 331-9.
101. Rispeter K RM. 2001. Molekularbiologie des Hepatitis-C-Virus. *Molekularbiologie des Hepatitis-C-Virus*. Berlin, Deutschland: Blackwell Wissenschafts-Verlag
102. Robert-Koch-Institut. 2004. Epidemiologisches Bulletin 17/2004. *Epidemiologisches Bulletin* 17/2004.
103. Roche B, Samuel D. 2007. Risk factors for hepatitis C recurrence after liver transplantation. *J Viral Hepat* 14 Suppl 1: 89-96.
104. Rockey DC, Bissell DM. 2006. Noninvasive measures of liver fibrosis. *Hepatology* 43: S113-20.
105. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, et al. 2004. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology* 127: 1704-13.
106. S Zeuzem. 2004. Therapie der chronischen Hepatitis C. *Therapie der chronischen Hepatitis C*. Stuttgart, Deutschland: Georg Thieme Verlag
107. Salzberger B FG, Diehl V. 2004. Syndrome und spezifische Probleme. *Syndrome und spezifische Probleme*. München Jena, Deutschland: Urban & Fischer
108. Sanchez-Perez B, Santoyo J, Fernandez-Aguilar JL, et al. 2005. Preoperative factors and models predicting mortality in liver transplantation. *Transplant Proc* 37: 1499-501.
109. Shaw BW, Jr., Martin DJ, Marquez JM, et al. 1984. Venous bypass in clinical liver transplantation. *Ann Surg* 200: 524-34.

110. Shiffman ML. 2003. Natural history and risk factors for progression of hepatitis C virus disease and development of hepatocellular cancer before liver transplantation. *Liver Transpl* 9: S14-20.
111. Smith BC, Gorve J, Guzail MA, et al. 1998. Heterozygosity for hereditary hemochromatosis is associated with more fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 27: 1695-9.
112. Starzl TE, Marchioro TL, Vonkaulla KN, et al. 1963. Homotransplantation Of The Liver In Humans. *Surg Gynecol Obstet* 117: 659-76.
113. Sugawara Y, Makuuchi M. 2006. Living donor liver transplantation to patients with hepatitis C virus cirrhosis. *World J Gastroenterol* 12: 4461-5.
114. Taga SA, Washington MK, Terrault N, et al. 1998. Cholestatic hepatitis C in liver allografts. *Liver Transpl Surg* 4: 304-10.
115. Takada M, Nadeau KC, Hancock WW, et al. 1998. Effects of explosive brain death on cytokine activation of peripheral organs in the rat. *Transplantation* 65: 1533-42.
116. Teixeira R, Papatheodoridis GV, Burroughs AK. 2001. Management of recurrent hepatitis C after liver transplantation. *J Viral Hepat* 8: 159-68.
117. Tharaux PL, Chatziantoniou C, Fakhouri F, Dussaule JC. 2000. Angiotensin II activates collagen I gene through a mechanism involving the MAP/ER kinase pathway. *Hypertension* 36: 330-6.
118. Thorburn D, Curry G, Spooner R, et al. 2002. The role of iron and haemochromatosis gene mutations in the progression of liver disease in chronic hepatitis C. *Gut* 50: 248-52.
119. Thuluvath PJ, Krok KL. 2005. Noninvasive markers of fibrosis for longitudinal assessment of fibrosis in chronic liver disease: are they ready for prime time? *Am J Gastroenterol* 100: 1981-3.
120. Thursz M. 2007. Iron, haemochromatosis and thalassaemia as risk factors for fibrosis in hepatitis C virus infection. *Gut* 56: 613-4.
121. Tung BY, Emond MJ, Bronner MP, et al. 2003. Hepatitis C, iron status, and disease severity: relationship with HFE mutations. *Gastroenterology* 124: 318-26.
122. van der Hoeven JA, Ploeg RJ, Postema F, et al. 1999. Induction of organ dysfunction and up-regulation of inflammatory markers in the liver and kidneys of

- hypotensive brain dead rats: a model to study marginal organ donors. *Transplantation* 68: 1884-90.
123. van Der Hoeven JA, Ter Horst GJ, Molema G, et al. 2000. Effects of brain death and hemodynamic status on function and immunologic activation of the potential donor liver in the rat. *Ann Surg* 232: 804-13.
  124. Waalen J, Felitti V, Gelbart T, et al. 2002. Penetrance of hemochromatosis. *Blood Cells Mol Dis* 29: 418-32.
  125. Waalen J, Felitti V, Gelbart T, et al. 2002. Prevalence of hemochromatosis-related symptoms among individuals with mutations in the HFE gene. *Mayo Clin Proc* 77: 522-30.
  126. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, et al. 2003. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 38: 518-26.
  127. Walter T, Dumortier J, Guillaud O, et al. 2007. Factors influencing the progression of fibrosis in patients with recurrent hepatitis C after liver transplantation under antiviral therapy: a retrospective analysis of 939 liver biopsies in a single center. *Liver Transpl* 13: 294-301.
  128. Woo DH, Laberge JM, Gordon RL, et al. 2007. Management of portal venous complications after liver transplantation. *Tech Vasc Interv Radiol* 10: 233-9.
  129. Wood RP, Ozaki CF, Katz SM, et al. 1994. Liver transplantation. The last ten years. *Surg Clin North Am* 74: 1133-54.
  130. Yilmaz N, Shiffman ML, Stravitz RT, et al. 2007. A prospective evaluation of fibrosis progression in patients with recurrent hepatitis C virus following liver transplantation. *Liver Transpl* 13: 975-83.
  131. Yoshiji H, Kuriyama S, Yoshii J, et al. 2001. Angiotensin-II type 1 receptor interaction is a major regulator for liver fibrosis development in rats. *Hepatology* 34: 745-50.
  132. Zeuzem S. RWK. 2001. Diagnostik der HCV-Infektion. *Diagnostik der HCV-Infektion*. Berlin, Deutschland: Blackwell Wissenschafts-Verlag
  133. Zidek W. 2004. Hypertonie und Hypotonie. *Hypertonie und Hypotonie*. München Jena, Deutschland: Urban & Fischer

## 8 Anhang

### 8.1 Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Die verwendeten Einheiten entsprechen dem internationalen Standards (SI-Einheiten).

2',5'-OAS	2',5'-Oligo-Adenylatsynthetase
A	Adenin
AAR	AST-to-ALT-Ratio
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ACR	akute zelluläre Rejektion, akute Abstoßungsepisode
AGT	Angiotensinogen
AGTR1	Angiotensinogen-Typ-1-Rezeptor
AK	Antikörper
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
AP Index	Age-to-platelet Index
API(d)	Donor-Age-to-platelet Index
APR	Albumin-Protein-Ratio
APRI	AST-to-platelets-ratio-index
AS	Aminosäuren
Asp	Asparaginsäure
AST	Aspartat-Aminotransferase
ATG	Anti-Lymphozytenglobulin-Präparat
AUC	Area under the curve
AUROC	Area under the receiver operating curve
AZ	Allgemeinzustand
AZA	Azathioprin
Bili (t)	Gesamt-Bilirubin
BMI	Body-Mass-Index
Bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
C-22	Core-Antigen
CA	Canada

ca.	circa
CD	Cluster Determinants
cDNA	komplementäre Desoxyribonukleinsäure
CDS	Cirrhosis Discriminant Score
CI	Confidence Interval
CMV	Zytomegalievirus
CNI	Calcineurin-Inhibitor
cop	Kopien
Corp.	Corporation
CsA	Cyclosporin A
Cys	Cystein
d	Tag
DARFI	Donor-age-related-fibrosis-index
d.h.	das heißt
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EIA	Enzym-Immunoassay
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
et al.	und andere
etc.	etcetera
F0	keine Fibrose
F1	milde Fibrose
F2	moderate Fibrose ohne Septenbildung
F3	moderate Fibrose mit Septenbildung
F4	Zirrhose
FI	Fibrosis Index
FK 506	Tacrolimus
FRET	Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer
G	Guanin
GGT	Gamma-Glutamyltranspeptidase
GIDH	Glutamat-Dehydrogenase
GTP	Guanosintriphosphat
HA	Hyaluronsäure

---

HAV	Hepatitis-A-Virus
Hb	Hämoglobin
HBV	Hepatitis-B-Virus
HCC	hepatozelluläres Karzinom
HCV	Hepatitis-C-Virus
HH	Hereditäre Hämochromatose
His	Histidin
HIV	Humanes Immundefizienz Virus
HLA	Humanes Leukozyten-Antigen
HVR	hypervariable Region
iAAR	ALT-to-AST-Ratio
ICU	Intensive Care Unit
IFN $\alpha$	Interferon-alpha
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
Inc.	Incorporation
IMPDH	Inositolmonophosphat-Dehydrogenase
INR	International Normalized Ratio
IU	International Units
JÜR	Jahres-Überlebensrate
Krea	Kreatinin
l	Liter
LDL	Low Density Lipoprotein
MEq	Mega-Äquivalent
Met	Methionin
$\mu$ l	Mikroliter
MHC	Major-Histo-Compability
MMF	Mycophenolat Mofetil
MMP-1/2	Matrixmetalloproteinase-1/2
ml	Milliliter
mm	Milimeter

mg	Milligramm
mRNA	Messenger-Ribonukleinsäure
Mx	Myxoviren
n	Anzahl
Na <sup>+</sup>	Natrium
NANB	Non-A-Non-B
NC1	Typ IV Kollagen-Fragment
NJ	New Jersey
npW	negativ prädiktiver Wert
n.s.	nicht signifikant
NS	Nichtstrukturprotein
OKT3	Anti-CD3-Antikörper
OLT	orthotope Lebertransplantation
OP	Operation
p	asymptotische Signifikanz
PCR	Polymerase-Ketten-Reaktion
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PEG	Polyethylenglykole
PegIFN $\alpha$	pegyliertes Interferon-alpha
PICP	Prokollagen I C Peptid
PIIINP	Prokollagen III N Peptid
PINVP	Typ IV Kollagen-Fragment
PKR	Doppelstrang-RNA-abhängige Proteinkinase
ppW	positiv prädiktiver Wert
RAS	Renin-Angiotensinogen-System
RKI	Robert Koch Institut
RLFP	Restriktionslängenpolymorphismus
RNA	Ribonukleinsäure
ROC	Receiver Operating Curves
RT-PCR	Real-Time-Polymerase-Kettenreaktion
Ser	Serin
SHT	Schädelhirntrauma

SNP	Einzelnukleotid-Polymorphismen
$t_{1/2}$	Halbwertszeit
Tac	Tacrolimus
TGF- $\beta$	Transforming Growth Factor $\beta$
TH1	T-Helferzellen-1
TIMP-1/2	Tissue-Inhibitor-Metalloproteinase-1/2
TNF- $\alpha$	Tumor Nekrose Faktor $\alpha$
TPZ	Thromboplastinzeit (Quick)
Tyr	Tyrosin
UAW	unerwünschte Arzneimittelwirkung
ULN	Upper Limit of Normal
USA	United States of America
vs.	versus
$\chi^2$	Chi-Quadrat
y	Jahre
z.B.	zum Beispiel
°C	Grad Celsius
%	Prozent

## 8.2 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1.</b> Komplikationen der Leberbiopsie .....	14
<b>Tabelle 2.</b> Anforderungen an einen idealen nicht-invasiven Marker.....	14
<b>Tabelle 3.</b> Nicht-invasive Testverfahren zur Evaluation des Fibrorestadiums .....	15
<b>Tabelle 4.</b> Marker zur Beurteilung der Fibroseprogression .....	16
<b>Tabelle 5.</b> Hauptcharakteristika der 300 Transplantatempfänger.....	18
<b>Tabelle 6.</b> Modifizierter Histologischer Aktivitätsindex nach Ishak <i>et al</i> .....	19
<b>Tabelle 7.</b> Charakteristika der 79 Transplantatempfänger mit 0-Biopsie.....	20
<b>Tabelle 8.</b> Charakteristika der 147 Transplantatempfänger mit Gen-Polymorphismen .	21
<b>Tabelle 9.</b> Todesursachen nach OLT.....	33
<b>Tabelle 10.</b> p-Werte für Patienten- und Transplantatüberleben (univariate Analyse)....	35

<b>Tabelle 11.</b> p-Werte für Patienten- und Transplantatüberleben (multivariate Analyse) .	36
<b>Tabelle 12.</b> Verteilung der Fibrosestadien ein, drei und fünf Jahre nach OLT. ....	39
<b>Tabelle 13.</b> p-Werte für die Entwicklung einer höhergradigen Fibrose und einer Leberzirrhose ein Jahr nach OLT (univariate Analyse) .....	40
<b>Tabelle 14.</b> p-Werte für die Entwicklung einer höhergradigen Fibrose und einer Leberzirrhose drei Jahre nach OLT (univariate Analyse) .....	41
<b>Tabelle 15.</b> p-Werte für die Entwicklung einer höhergradigen Fibrose und einer Leberzirrhose fünf Jahre nach OLT (univariate Analyse) .....	41
<b>Tabelle 16.</b> p-Werte für die Entwicklung einer höhergradigen Fibrose und einer Leberzirrhose ein Jahr nach OLT (multivariate Analyse).....	42
<b>Tabelle 17.</b> p-Werte für die Entwicklung einer höhergradigen Fibrose und einer Leberzirrhose drei Jahre nach OLT (multivariate Analyse).....	42
<b>Tabelle 18.</b> p-Werte für die Entwicklung einer höhergradigen Fibrose und einer Leberzirrhose fünf Jahre nach OLT (multivariate Analyse).....	43
<b>Tabelle 19.</b> Donor-age-related-fibrosis-index (DARFI): Prädiktion einer höhergradigen Fibrose und einer Leberzirrhose.....	43
<b>Tabelle 20.</b> Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert, negativer prädiktiver Wert und AUROC von DARFI zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose und einer Leberzirrhose ein, drei und fünf Jahre nach OLT .....	44
<b>Tabelle 21.</b> Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert, negativer prädiktiver Wert und AUROC der nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose ein Jahr nach OLT .....	44
<b>Tabelle 22.</b> Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert, negativer prädiktiver Wert und AUROC der nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose drei Jahre nach OLT .....	45
<b>Tabelle 23.</b> Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert, negativer prädiktiver Wert und AUROC der nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose fünf Jahre nach OLT .....	45
<b>Tabelle 24.</b> Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert, negativer prädiktiver Wert und AUROC der nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer Leberzirrhose ein Jahr nach OLT .....	45
<b>Tabelle 25.</b> Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert, negativer prädiktiver Wert und AUROC der nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer Leberzirrhose drei Jahre nach OLT .....	46

<b>Tabelle 26.</b> Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert, negativer prädiktiver Wert und AUROC der nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer Leberzirrhose fünf Jahre nach OLT .....	46
<b>Tabelle 27.</b> AUROC und Konfidenzintervalle von DARFI und der nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose und Leberzirrhose ein Jahr nach OLT .....	48
<b>Tabelle 28.</b> AUROC und Konfidenzintervalle von DARFI und der nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose und Leberzirrhose drei Jahre nach OLT .....	48
<b>Tabelle 29.</b> AUROC und Konfidenzintervalle von DARFI und der nicht-invasiven Messverfahren zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose und Leberzirrhose fünf Jahre nach OLT .....	48
<b>Tabelle 30.</b> Charakteristika der 79 Transplantatspender .....	49
<b>Tabelle 31.</b> Todesursachen der Patienten der Subgruppe Spenderfaktoren nach OLT	50
<b>Tabelle 32.</b> Analyse der Transplantate und Korrelation mit dem Empfängerüberleben	50
<b>Tabelle 33.</b> Histologie des Spenderorgans und Entwicklung einer höhergradigen Fibrose innerhalb des ersten Jahres nach OLT .....	51
<b>Tabelle 34.</b> Verteilung der Fibrosestadien in Abhängigkeit der Genpolymorphismen ein, drei und fünf Jahre nach OLT .....	53

### 8.3 Abbildungsverzeichnis

<b>Abb. 1:</b> Patienten- und Transplantatüberleben nach OLT .....	32
<b>Abb. 2:</b> Patientenüberleben in Abhängigkeit vom Spenderalter .....	37
<b>Abb. 3:</b> Patientenüberleben in Abhängigkeit vom Virusgenotyp .....	37
<b>Abb. 4:</b> Fibroseverlauf nach OLT ermittelt durch Protokollleberbiopsien .....	38
<b>Abb. 5:</b> ROC-Kurven nicht-invasiver Messverfahren zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose und einer Leberzirrhose ein Jahr nach OLT .....	47
<b>Abb. 6:</b> ROC-Kurven nicht-invasiver Messverfahren zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose und einer Leberzirrhose drei Jahre nach OLT .....	47
<b>Abb. 7:</b> ROC-Kurven nicht-invasiver Messverfahren zur Prädiktion einer höhergradigen Fibrose und einer Leberzirrhose fünf Jahre nach OLT .....	47
<b>Abb. 8:</b> HCV-RNA innerhalb der ersten 18 Monate nach OLT bei Patienten mit Transplantaten mit portaler Infiltration vs. keine Zeichen portaler Infiltration.....	52

## Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich besonders bei meinem Doktorvater Herrn PD Dr. med Neumann für die Bereitstellung des Themas, die Erwähnung als Mitautor bei Publikationen und die exzellente Betreuung während der gesamten Zeit, sowie für die Möglichkeit an einer hochrenommierten Klinik forschen zu dürfen, bedanken. Danken möchte ich zudem für die permanente Bereitstellung der notwendigen Software.

Herrn Dr. med Bahra danke ich besonders für seine hervorragende Betreuung und seinen unermüdlichen Einsatz zu jeder Tageszeit. Selbst nach Nachtdiensten fand er die Zeit Ergebnisse und Korrekturen mit mir durchzusprechen.

Nicht bedanken möchte ich mich bei meinem Timing im Hinblick auf telefonische Konsultationen. Allzu schnell bekam ich mit, in welchen Situationen mein Anruf deplaziert war (Operationen, Visiten, Patientengespräche). Allerdings wurde mir dieses nie übel genommen und ich erlernte sehr schnell das Gespräch rasch zu beenden.

Ein großen Dank möchte ich Herrn Delhaes und Herrn Hippler-Benscheidt aussprechen, die mich jederzeit mit Daten und der nötigen Software belieferten und ohne sie mir einige Stressmomente erspart blieben.

Herrn Dr. med Justus Welke möchte ich für seine statistische Beratung und Unterstützung in der Berechnung der Daten danken.

Danken möchte ich Herrn Professor Dr. med Berg und seinem Team der Lebersprechstunde, sowie des immunologischen Labors, für die Bereitstellung der genetischen Daten der Patienten. Mein besonderer Dank gilt hierbei Frau Dr. med Juliane Halangk und Frau Malik.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie. Melanie, in jeder Situation hast Du mich unterstützt und warst für mich da, wenn ich Dich brauchte. Ohne Dich würde diese Arbeit optisch nicht so schön aussehen, wie sie jetzt ist. Du hast immer an mich geglaubt und mich dies spüren lassen. Dies hat mich unendlich motiviert. Ich bin glücklich an Deiner Seite zu stehen. Ich liebe Dich.

Mama und Papa, Euch danke ich dafür, dass Ihr mich zu der Person habt werden lassen, die ich jetzt bin. Danke für Eure Liebe. Ich bin stolz Euer Sohn zu sein.

Dorothee und Sven-Nicolas, ich danke Euch für Eure Unterstützung, die ich jederzeit erfahren darf. Seid sicher, dass ich als großer Bruder immer für Euch da bin.

Mamie und Papie, ich möchte Euch dafür danken, dass Ihr immer für uns Enkelkinder da wart. Euch stolz und glücklich zu sehen ist das größte Geschenk, das Ihr uns machen könnt.

Eckhard, Dir danke ich für die Korrektur meiner Einleitung. Mir ist bewusst, dass dadurch ein Teil Deiner Versorgung (durch Currywürste) als gesichert angesehen werden darf.

Ein besonderer Dank gilt den Patienten, die ich nie Kennen gelernt habe, aber ohne die diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre. Ich hoffe meine Arbeit trägt dazu bei die Therapie der Hepatitis C über lang oder kurz zu optimieren.

## **Erklärung an Eides Statt**

„Ich, Fabian Spies, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: Einflussfaktoren auf den Verlauf der Reinfektionshepatitis nach orthotoper Lebertransplantation selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift

## **Lebenslauf**

Aus Datenschutzgründen wurde auf die Veröffentlichung des Lebenslaufes in der elektronischen Version der Dissertation verzichtet.