

Aus der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und  
Gastroenterologie der Medizinischen Fakultät Charité-  
Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Untersuchung zur Prävalenz und Bedeutung spezifischer  
inhibitorischer Auto-Antikörper gegen muskarinerge  
Acetylcholinrezeptoren vom Typ 3 bei PatientInnen mit primär  
sklerosierender Cholangitis - eine retrospektive  
Monocenterstudie am Interdisziplinären Leberzentrum der  
Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow  
Klinikum

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Lara Marleen Steinhagen

aus Berlin

Datum der Promotion: 04.06.2021

# Inhaltsverzeichnis

## Inhaltsverzeichnis

|   |    |
|---|----|
| Inhaltsverzeichnis .....  | 2  |
| Tabellenverzeichnis .....   | 4  |
| Abbildungsverzeichnis .....   | 5  |
| Abkürzungsverzeichnis .....   | 6  |
| Abstrakt .....  | 11 |
| Abstract .....  | 13 |
| 1 Einleitung .....  | 15 |
| 1.1 Die primär sklerosierende Cholangitis (PSC) im Spektrum chronisch-entzündlicher<br>Gallengangserkrankungen .....  | 15 |
| 1.2 Diagnostik .....  | 19 |
| 1.3 Therapie .....  | 21 |
| 1.4 Faktoren der Ätiopathogenese .....  | 25 |
| 1.5 Hypothetisches Modell zur Rolle des muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3<br>(mAChR3) bei der Pathogenese der PSC .....  | 26 |
| 1.6 Spezifische Autoantikörper gegen den mAChR3 als neues hypothetisches Pathogenese-<br>Modell bei der PSC .....   | 28 |
| 1.7 Vorarbeiten der Arbeitsgruppe chronisch-entzündliche Gallenwegserkrankungen am<br>Interdisziplinären Leberzentrum der Charité – Universitätsmedizin Berlin, CVK ..... | 29 |
| 1.8 Zusammenfassung und Ziel dieser Arbeit .....  | 33 |
| 2 Methoden .....  | 35 |
| 2.1 Einschluss der PatientInnen .....   | 35 |
| 2.2 Beobachtungszeitraum .....  | 37 |
| 2.3 Datenerhebung .....   | 38 |
| 2.4 Therapien .....   | 40 |

# Inhaltsverzeichnis

|  |     |
|--|-----|
| 2.5 Statistische Methoden.....   | 40  |
| 3 Ergebnisse .....   | 41  |
| 3.1 Prävalenz von mAChR3 Auto-Antikörpern (mAChR3 Auto-AK).....            | 41  |
| 3.2 Charakterisierung des Gesamtkollektivs .....                           | 42  |
| 3.3 Klinische Präsentation.....  | 49  |
| 3.4 Komorbiditäten.....  | 52  |
| 3.5 Laborchemie.....   | 53  |
| 3.6 Untersuchungsbefunde im Verlauf in Abhängigkeit des mAChR3-Status..... | 58  |
| 3.7 Mortalität und Langzeitüberleben .....                                 | 63  |
| 3.8 Lebertransplantation.....  | 68  |
| 4 Diskussion .....   | 72  |
| 5 Literaturverzeichnis.....  | 84  |
| 6 Eidesstattliche Versicherung .....                                       | 94  |
| 7 Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen .....               | 96  |
| 8 Lebenslauf .....   | 97  |
| 9 Publikationsliste .....  | 98  |
| 10 Danksagungen .....  | 100 |

## Tabellenverzeichnis

### **Tabellenverzeichnis**

|             |   |    |
|-------------|---|----|
| Tabelle 1:  | Übersicht über hepatobiliäre Neoplasien bei PSC PatientInnen.....   | 19 |
| Tabelle 2:  | Therapieempfehlungen zur PSC von DVGS, EASL, AASLD.....   | 24 |
| Tabelle 3:  | Allgemeine Charakteristika der PSC PatientInnen.....  | 45 |
| Tabelle 4:  | Laborparameter vor Therapiebeginn in Abhängigkeit des mAChR3-AK Status.....   | 54 |
| Tabelle 5:  | 1-Jahres Ansprech-Raten nach UDC Therapie.....  | 56 |
| Tabelle 6:  | 5-Jahres Ansprechraten auf UDC anhand der AP.....   | 57 |
| Tabelle 7:  | Lokalisation der Manifestation in Abhängigkeit vom mAChR3-Status.....   | 58 |
| Tabelle 8:  | Zytologiebefunde in Abhängigkeit des mAChR3-Status.....   | 60 |
| Tabelle 9:  | Medianes Überleben der PSC PatientInnen des Interdisziplinären Leberzentrums nach 1, 5, 10 und 15 Jahren.....               | 65 |
| Tabelle 10: | Medianes Überleben der PSC PatientInnen aus der Ambulanz für Lebertransplantation nach 1, 5, 10 und 15 Jahren nach LTX..... | 67 |
| Tabelle 11: | Prädiktive Faktoren für eine Lebertransplantation bei PSC PatientInnen. ..  | 68 |
| Tabelle 12: | Auftreten eines Rezidivs oder einer ITBL nach Lebertransplantation in Abhängigkeit des mAChR3-Auto-AK-Status.....           | 70 |

## Abbildungsverzeichnis

### **Abbildungsverzeichnis**

|               |   |    |
|---------------|---|----|
| Abbildung 1:  | Diagnostik bei PSC PatientInnen.....  | 21 |
| Abbildung 2:  | Modell der multifaktoriellen Ätiologie der PSC.....   | 26 |
| Abbildung 3:  | Acetylcholinrezeptoren vom Typ 3 (mAChR3) im hypothetischen Modell des „Bikarbonat-Schutzschirms“ des Gallengangsepithels.....  | 27 |
| Abbildung 4:  | Immunhistologischer Nachweis von mAChR3 (hier:M3R) im intrahepatischen Gallengangsepithel. ....   | 31 |
| Abbildung 5:  | Lumineszenz-basierter Assay zur Funktionalitätsprüfung spezifischer Autoantikörper gegen muskarinenger Acetylcholinrezeptoren vom Typ 3. ....   | 32 |
| Abbildung 6:  | Einschluss und Ausschluss der PatientInnen in die Langzeitbeobachtung..   | 37 |
| Abbildung 7:  | Prävalenz von mAChR3-Auto-AK bei PSC PatientInnen, PBC PatientInnen und einer gesunden Kontrollgruppe zum Vergleich. ....   | 42 |
| Abbildung 8:  | Charakterisierung der PatientInnen, die in die retrospektive Studie eingeschlossen wurden.....  | 43 |
| Abbildung 9:  | Beobachtungszeit der eingeschlossenen PSC PatientInnen. ....  | 44 |
| Abbildung 10: | Dauer in Monaten bis zur Diagnosestellung.....  | 48 |
| Abbildung 11: | Symptome zum Zeitpunkt der Erstdiagnose.....  | 50 |
| Abbildung 12: | Klinischer Verlauf der PSC PatientInnen. ....   | 51 |
| Abbildung 13: | Komorbiditäten der PSC PatientInnen des Interdisziplinären Leberzentrums der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin (CVK)..... | 53 |
| Abbildung 14: | Komplikationen der PSC im Verlauf in Abhängigkeit des mAChR3-Status. ....   | 63 |
| Abbildung 15: | Vergleich der Überlebenszeiten bei PSC PatientInnen.....  | 64 |
| Abbildung 16: | Vergleich der Überlebenszeiten der LTX-PatientInnen.....  | 66 |

## Abkürzungsverzeichnis

### **Abkürzungsverzeichnis**

|                        |  |
|------------------------|--|
| <b>AASLD</b>           | American Association for the Study of Liver Diseases |
| <b>ACh</b>             | Acetylcholin   |
| <b>AE2</b>             | Anion exchange protein 2                             |
| <b>AFP</b>             | Alpha-Fetoprotein                                    |
| <b>AIH</b>             | Autoimmunhepatitis                                   |
| <b>AIP</b>             | Autoimmunpankreatitis                                |
| <b>ALAT</b>            | Alanin-Aminotransferase                              |
| <b>AP</b>              | Alkalische Phosphatase                               |
| <b>ASAT</b>            | Aspartat-Aminotransferase                            |
| <b>Auto-AK</b>         | Auto-Antikörper                                      |
| <b>BEC</b>             | Biliary epithelial cells                             |
| <b>bzw.</b>            | beziehungsweise                                      |
| <b>Ca<sup>2+</sup></b> | Calcium  |
| <b>CA 19-9</b>         | Carbohydrate-Antigen 19-9                            |
| <b>cAMP</b>            | Zyklisches Adenosinmonophosphat                      |

## Abkürzungsverzeichnis

|                   |   |
|-------------------|---|
| <b>CCC</b>        | Cholangiozelluläres Karzinom  |
| <b>CEA</b>        | Carzinoembryonales Antigen  |
| <b>CED</b>        | Chronisch-entzündliche Darmerkrankung                                       |
| <b>ChAT</b>       | Acetylcholintransferase   |
| <b>CHO-Zellen</b> | Chinese Hamster Ovary Zellen  |
| <b>CRC</b>        | Kolorektales Karzinom   |
| <b>CU</b>         | Colitis Ulcerosa  |
| <b>DGVS</b>       | Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten |
| <b>DHC</b>        | Ductus hepaticus communis   |
| <b>EASL</b>       | European Association for the Study of the Liver                             |
| <b>ELISA</b>      | Enzyme-linked immunoassay   |
| <b>EMT</b>        | Epitheliale mesenchymale Transition   |
| <b>EpCam</b>      | Epithelial Cell Adhesion Molecule   |
| <b>ERC</b>        | Endoskopisch retrograde Cholangiographie                                    |
| <b>ERCP</b>       | Endoskopisch retrograde Cholangiopankreatikographie                         |
| <b>ESLD</b>       | End stage liver disease   |

## Abkürzungsverzeichnis

|                               |  |
|-------------------------------|--|
| <b>FMO</b>                    | Fluorescence minus one                       |
| <b>GBC</b>                    | Gallenblasenkarzinom                         |
| <b>GFP</b>                    | Green fluorescent protein                    |
| <b><math>\gamma</math>-GT</b> | Gamma-Glutamyltransferase                    |
| <b>hBEC</b>                   | Biliäre Epithelzellen                        |
| <b>HBSS</b>                   | Hank's balanced salt solution                |
| <b>HCC</b>                    | Hepatozelluläres Karzinom                    |
| <b>IAC</b>                    | IgG4-assoziierte-sklerosierende Cholangitis  |
| <b>IgG</b>                    | Immunglobulin G                              |
| <b>INR</b>                    | International normalized ratio               |
| <b>LEC</b>                    | Lung epithelial cells                        |
| <b>LLN</b>                    | Lower limit of normal                        |
| <b>InsP3</b>                  | Inositoltriphosphat                          |
| <b>ITBL</b>                   | Ischemic type biliary lesion                 |
| <b>LTX</b>                    | Lebertransplantation                         |
| <b>mAChR3</b>                 | Muskarinerges Acetylcholinrezeptor vom Typ 3 |

## Abkürzungsverzeichnis

|                        |   |
|------------------------|---|
| <b>mAChR3- Auto-AK</b> | Auto- Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3                               |
| <b>mAChR3+</b>         | mAChR3-Auto-Antikörper, die auf den muskarinergen Acetylcholinrezeptor Typ 3 inhibierend wirken       |
| <b>mAChR3-</b>         | mAChR3-Auto-Antikörper, die auf den muskarinergen Acetylcholinrezeptor Typ 3 nicht-inhibierend wirken |
| <b>MFI</b>             | $\Delta$ mittlere Fluoreszenzintensität   |
| <b>mg/kg KG/d</b>      | Milligramm pro Kilogramm Körpergewicht pro Tag  |
| <b>MHC</b>             | Major Histocompatibility Complex  |
| <b>MRT</b>             | Magnetresonanztomographie   |
| <b>MRCP</b>            | Magnetresonanz-Cholangiopankreatikographie  |
| <b>NASH</b>            | Non-alcoholic steatohepatitis   |
| <b>ns</b>              | nicht signifikant   |
| <b>OCT1</b>            | Organic Cation Transporter 1  |
| <b>PAMPs</b>           | Pathogen-Associated Molecular Patterns  |
| <b>PBC</b>             | Primär biliäre Cholangitis  |
| <b>PCR</b>             | Polymerase-chain-reaction   |
| <b>PSC</b>             | Primär sklerosierende Cholangitis   |

## Abkürzungsverzeichnis

|            |                       |
|------------|-----------------------|
| <b>SE</b>  | Standard exceptions   |
| <b>TH</b>  | T-Helferzelle         |
| <b>TLR</b> | Toll-like receptor    |
| <b>ULN</b> | Upper limit of normal |
| <b>UDC</b> | Ursodesoxycholsäure   |

## Abstrakt

### **Abstrakt**

Die primär sklerosierende Cholangitis (PSC) ist eine seltene chronisch-entzündliche Gallengangserkrankung. Sie ist aufgrund des erhöhten Risikos für die Entwicklung von Cholangiokarziomen mit einer hohen Mortalität verbunden. Die Genese ist multifaktoriell. Die Therapie der PSC ist symptomatisch und besteht aus der gewichtsadaptierten Gabe von Ursodesoxycholsäure (UDC) und Dilatationen dominanter Engstellen. Letztlich kann nur eine Lebertransplantation das Überleben bei aggressivem Krankheitsverlauf sichern.

Dysfunktionale Acetylcholin-vermittelte Signalwege über den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3 (mAChR3) in den Gallengängen könnten durch eine Beeinträchtigung des biliären Bikarbonat-Schutzschirms, der nach einem hypothetischen Modell das Gallengangsepithel vor dem toxischen Einfluss physiologischer Gallensäuren schützt, an der Pathogenese beteiligt sein.

In vorherigen Arbeiten konnten inhibitorische Auto-Antikörper gegen den mAChR3 (mAChR3 Auto-AK) bei PatientInnen mit Autoimmunerkrankungen nachgewiesen werden. Ziel der hier vorliegenden retrospektiven Studie war die Bestimmung der Prävalenz und Bedeutung der Auto-AK bei 187 PSC PatientInnen aus dem Interdisziplinären Leberzentrum der Charité – Universitätsmedizin Berlin am Campus Virchow Klinikum sowie der Ambulanz für Lebertransplantation der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie des Campus Virchow Klinikums (CVK) der Charité – Universitätsmedizin Berlin.

Die Prävalenz von mAChR3 Auto-AK war bei den PatientInnen mit 33,66% signifikant erhöht im Vergleich zu 11,2% bei der erkrankten PBC Kontrollkohorte und der gesunden Kontrollkohorte mit 2,5% ( $p < 0,0001$ ). PSC PatientInnen mit inhibitorischen mAChR3 Auto-AK (mAChR3+ PSC) sowie auch PSC PatientInnen mit nicht-inhibitorischen mAChR3 Auto-AK (mAChR3- PSC) hatten gleichermaßen pathologisch erhöhte Werte für Bilirubin, alkalische Phosphatase (AP) und  $\gamma$ -Glutamyltransferase ( $\gamma$ -GT). Bei mAChR3- PSC

## Abstrakt

PatientInnen zeigte sich ein schlechteres 5-Jahres Ansprechen auf die UDC Therapie. Nach 10 Jahren Therapie zeigte sich jedoch kein Unterschied mehr. Bei mAChR3+ PSC trat häufiger ein *Overlap*-Syndrom mit einer Autoimmunhepatitis (AIH) auf. Es ließen sich keine prädiktiven Laborparameter für eine Lebertransplantation (LTX) eruieren. Es zeigte sich kein Unterschied in den Lebertransplantationsraten und kein signifikanter Unterschied im Auftreten von PSC Rezidiven nach erfolgter LTX. Insgesamt hatten 11,59% aller transplantierten PSC PatientInnen nach 10 Jahren im Median ein gesichertes Rezidiv und 15,94% eine ITBL im Transplantat.

**Schlussfolgerung:** In der Zusammenschau der vorliegenden Daten zeigte sich kein eindeutiger Einfluss dysfunktionaler mAChR3-vermittelter Signalwege auf die Entstehung und den Verlauf der PSC. Aufgrund der Vordaten könnten weitere Untersuchungen in Form von prospektiven Analysen größerer unabhängiger Kohorten sinnvoll sein, um größere Datenmengen zu erfassen.

## Abstract

### Abstract

**Introduction:** Primary Sclerosing Cholangitis (PSC) is a rare chronic inflammatory disease of the bile ducts. It can lead to cholangiocarcinoma which results in a high mortality. The etiology is multifactorial. There is only symptomatic treatment which usually consists of weight-adapted prescription of ursodeoxycholic acid and biliary interventions in case of dominant bile duct strictures. Eventually only a liver transplantation can save the lives of patients with aggressive disease progression.

Dysfunctional acetylcholine-mediated pathways might play a role in pathogenesis of chronic bile duct inflammation through the bile duct specific mAChR3 that alters the bicarbonate umbrella which protects the biliary epithelial barrier from toxic effect of bile acids.

In previous studies, inhibitory auto-antibodies have been shown in patients with auto-immune diseases. The aim of this study was to show the prevalence and significance of auto-antibodies against the muscarinic acetylcholine receptor type 3 (anti-mAChR3) in patients from the interdisciplinary liver center of Charité Medical School, Campus Virchow Clinic. and from the outpatient clinic for liver transplantation of the Charité Medical School, Campus Virchow Clinic.

The prevalence of inhibitory anti-mAChR3 in PSC patients was significantly higher with a percentage of 33,66% in comparison to 11,2 % in the control cohort of PBC patients and a healthy cohort with 2,5% ( $p < 0,0001$ ). Furthermore patients with inhibitory anti-mAChR3 (mAChR3+) showed the same pathologically high bilirubine, alcalic phosphatase and  $\gamma$ -glutamyltransferase as PSC patients without anti-mAChR3. The incidence of overlap-syndromes with autoimmune hepatitis was higher in mAChR3+ patients. After five years, mAChR3- PSC patients showed a worse response to UDC therapy. After ten years there was no difference anymore. No predictors for transplantation were found. There was no significant difference in disease recurrence after liver transplantation. In total 11,59% appeared to have a

## Abstract

recurrent PSC ten years after transplantation and 15,94% had an Ischemic type biliary lesion (ITBL).

**Conclusion:** The available data suggest that there is no evidence for a role of dysfunctional pathways related to mAChR3 in the pathogenesis and course of PSC. With regard to previous data, further studies such as a prospective analysis of larger independent cohorts could allow to determine the function of mAChR3 in PSC.

## 1 Einleitung

### 1 Einleitung

#### 1.1 Die primär sklerosierende Cholangitis (PSC) im Spektrum chronisch-entzündlicher Gallengangserkrankungen

Die primär sklerosierende Cholangitis (PSC) gehört neben der primär biliären Cholangitis (PBC) zu den wichtigsten chronisch-entzündlichen Gallengangserkrankungen. Diese zeichnen sich durch einen variablen Verlauf aus, der langsam progredient von einer unkomplizierten, klinisch inapparenten laborchemischen Cholestase über teils lebensbedrohliche Cholangitiden bis zur biliären Zirrhose führen kann. Vor allem bei der multifokalen, progressiven PSC kann dies zu einer Lebererkrankung im Endstadium (engl. *End Stage Liver Disease*, ESLD) führen, dessen einzige therapeutische Option die Lebertransplantation (LTX) darstellt [1]. Die PSC wird in der Regel später diagnostiziert als die PBC und weniger effektiv mit Ursodesoxycholsäure (UDC) gemäß der Leitlinie Autoimmune Lebererkrankungen der Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) behandelt [2]. Die Indikation zur LTX wird bei der PSC deutlich häufiger gestellt. Des Weiteren existieren sogenannte Überlappungs- (engl. *Overlap*) Syndrome, wobei sowohl eine PSC als auch eine PBC in Kombination mit einer Autoimmunhepatitis (AIH) assoziiert sein können [3]. Die Abgrenzung zur Immunglobulin G4 (IgG4)-assoziierte Cholangitis (IAC) hat sich als wichtig heraus gestellt [4]. Das *Overlap*-Syndrom aus PSC und AIH wird dabei häufiger in der Kindheit oder im jungen Erwachsenenalter beobachtet [3].

##### 1.1.1 Charakteristika der PSC

Die PSC ist eine seltene Erkrankung, welche sich als abnorme Proliferation und langsam progrediente Sklerosierung der intra- und extra-hepatischen Gallengänge manifestiert. Dabei kommt es zu unregelmäßigen, multifokalen Strikturen und Obliterationen im Wechsel mit normalen oder dilatierten Gallengangsabschnitten. Dies wird typischerweise als eine

## 1 Einleitung

perlschnurartige Morphologie in der Cholangiographie bezeichnet [1]. Die PSC ist in der Mehrheit der Fälle (80–90%) mit einer chronisch-entzündlichen Darmerkrankung (CED) assoziiert. In mehr als zwei Drittel der Fälle (80 %) handelt es sich dabei um eine Colitis Ulcerosa (CU), seltener um einen Morbus Crohn (MC). Im Gegenzug liegt allerdings nur bei etwa 5% der PatientInnen mit einer CED eine PSC vor [5, 6]. Die Erkrankungen können metachron auftreten. So konnte in einer Untersuchung bei lebertransplantierten AIH- bzw. PSC PatientInnen eine de novo aufgetretene CED beobachtet werden [7]. Zum Zeitpunkt der Erstdiagnose sind etwas über Hälfte der PatientInnen symptomatisch. Zu den Symptomen zählen rechtsseitige Oberbauchschmerzen, Fieber, Nachtschweiß, Schüttelfrost, Pruritus und Ikterus [8]. Eine LTX musste in einer Studie nach durchschnittlich 82 Monaten Krankheitsverlauf bei 40% der PSC PatientInnen durchgeführt werden [9].

Bei einer kleinen Subgruppe von PSC PatientInnen deuten erhöhte Immunglobulin 4 (IgG4)-Serumspiegel auf einen aggressiveren Verlauf und eine schlechtere Prognose hin [10-13].

Die PSC der kleinen Gallenwege (engl. *small-duct*) löst ein weniger fulminantes Krankheitsbild aus und die PatientInnen haben ein signifikant längeres transplantfreies Überleben als solche mit einer PSC der großen Gallenwege (engl. *large-duct*). Allerdings ist bei nahezu einem Fünftel dieser PatientInnen zu beobachten, dass sich aus einer *small-duct* eine *large-duct* Erkrankung entwickelt [14].

Die Inzidenz der PSC in Europa variiert stark nach geographischer Lage und weist ein signifikantes Nord-Süd-Gefälle auf, wobei man die weltweit höchsten Zahlen in Norwegen findet [15]. Es werden in der Literatur Inzidenzraten von 0,4 bis 1,2 pro 100 000 pro Jahr angegeben.

Die Prävalenz der PSC wird insgesamt auf 1-10 Fälle pro 100.000 EinwohnerInnen geschätzt und ist in ihrer Tendenz steigend [1]. In der adulten schwedischen Gesamtpopulation wurde über eine Prävalenz der PSC von 16,2 pro 100.000 EinwohnerInnen berichtet [16].

Die PSC tritt im Verhältnis 2:1 auf, wobei Männer häufiger als Frauen betroffen sind [17]. Das durchschnittliche Alter bei Diagnosestellung der PSC liegt bei 30 bis 40 Jahren [17].

# 1 Einleitung

## 1.1.2 Morbidität und Mortalität

Der Krankheitsverlauf der PSC ist kaum vorhersehbar [14]. Zur Prognose bei fortgeschrittener PSC werden verschiedene Parameter herangezogen. Ein neuer Score nennt sich *Amsterdam-Oxford Model for PSC* und wird zur Prognose des transplantfreien Überlebens genutzt. Berücksichtigt werden dabei der PSC Subtyp, das Alter bei PSC Diagnose, Albumin, Thrombozyten, Aspartat-Aminotransferase (ASAT), alkalische Phosphatase (AP) und Bilirubin. Diese Parameter stellten sich in einer retrospektiven Studie mit über 900 PatientInnen statistisch als valabel heraus [18].

Ein Vorteil ist dabei das Eingehen des Surrogatmarkers AP, der sich als wichtiger Indikator für das *Outcome* einer PSC identifiziert wurde [19].

Auch der *Mayo Risk Score* wird zur Evaluierung der Prognose einer PSC genutzt. Dieser setzt sich aus der Bestimmung von Serum-Bilirubin, ASAT, Albumin, Alter der PatientInnen sowie dem Ereignis einer Varizenblutung zusammen [20].

Zur Abschätzung der Mortalität innerhalb der nächsten drei Monate wird außerdem das *Model For End-Stage Liver Disease* (MELD)-Score verwendet. Der MELD-Score ist außerdem wichtig, da hiernach die Allokation der Transplantatlebern entschieden wird. Er setzt sich aus Bilirubin, *International Normalized Ratio* (INR) und Serumkreatinin zusammen [21].

Bei der Mehrheit der PSC PatientInnen führt der progressive Leberschaden in einem Zeitraum von zehn bis 15 Jahren nach der Diagnosestellung zu presinusoidaler portaler Hypertension und Leberversagen [22]. Die Mortalität wird maßgeblich durch das Leberversagen und das Cholangiozelluläre Karzinom (CCC) erhöht. Studien zeigen ein variables medianes transplantfreies Überleben mit Zahlen von 9 Jahren und 5 Monaten bis 18 Jahren [8, 23, 24]. In einer Studie aus Neuseeland zeigte sich, dass die Überlebenschancen von PSC PatientInnen 15 Jahre nach Diagnose bei nur 45% lag [25]. Damit zeigte die PSC mit mehr als 4-fach höherem Mortalitätsrisiko als die in Alter und Geschlecht entsprechende Vergleichsgruppe aus der Normalbevölkerung das schlechteste *Outcome* [25].

## 1 Einleitung

In einer jüngeren Multicenter-Studie mit über 7000 PSC PatientInnen von Tobias Weismüller et al. wurde über 30 Jahre Krankheitsverlauf beobachtet und signifikante Unterschiede eruiert. Im Median wurden die PatientInnen nach 14 Jahren und 5 Monaten lebertransplantiert oder starben. Ca. 10 % entwickelten hepatopankreatobiliäre Karzinome. PSC PatientInnen hatten ein doppelt erhöhtes Risiko, eine maligne Neoplasie zu entwickeln. Diese machte dabei die Hälfte aller Todesfälle aus [26]. Dabei war das Risiko für hepatobiliäre Neoplasien in Studien mit einer Prävalenz von 10% insgesamt 40-fach erhöht [27].

Das cholangiozelluläre Karzinom (CCC) ist eine der am häufigsten auftretenden Neoplasien bei PSC PatientInnen [17]. Bei einem Großteil der PatientInnen ist die PSC zum Zeitpunkt der Diagnose bereits weit fortgeschritten, sodass bei bis zu sechs Prozent die Erstdiagnose zusammen mit der Diagnose eines CCC gestellt wurde [28]. Außerdem traten Gallenblasenkarzinome (GBC) und hepatozelluläre Karzinome (HCC) gehäuft auf [29]. Eine weitere Ursache für die erhöhte Mortalität ist die Assoziation der PSC mit CRC bei PatientInnen mit CED. PatientInnen mit PSC und CED zeigten ein signifikant höheres Risiko, an kolorektalen Karzinomen (CRC) und pankreatobiliären Neoplasien zu erkranken als CED-PatientInnen ohne PSC [30]. Bei PSC-CU-PatientInnen wurde ein 4-fach erhöhtes Risiko für Kolonkarzinome (CRC) im Vergleich zu CU PatientInnen beschrieben. Die kumulative Inzidenz des CRC lag respektive bei PSC/UC versus UC bei 9% und 2% nach 10 Jahren, und 20-31% und 5% nach 20 Jahren Krankheitsgeschichte [31]. Dabei sah man bei PatientInnen mit MC und ohne CED ein geringeres Risiko für LTX, Tod und bösartige Neoplasien im Vergleich zu PSC-CU-PatientInnen. Einen besseren Verlauf in Bezug auf harte Endpunkte wie LTX und Tod hatten außerdem Frauen und *small-duct* PSC PatientInnen [24].

# 1 Einleitung

**Tabelle 1: Übersicht über hepatobiliäre Neoplasien bei PSC PatientInnen.**

|  | CCC                       | CRC                                    | GBC     | HCC             |
|--|---------------------------|--|---------|-----------------|
| <b>Lebenszeitinzidenz</b>                        | 20%                       | 20-30%                                 | 3-14%   | 0,3-2,8%        |
| <b>Risiko im Vergleich zur Normalbevölkerung</b> | 400- bis 1500-fach erhöht | 10-fach erhöht                         | 10-fach | unbekannt       |
| <b>Prädiktoren</b>                               |                           | PSC als unabhängiger RF für CRC bei CU |         | Zirrhosestadium |

CCC: Cholangiozelluläres Karzinom, CRC: Kolorektales Karzinom, GBC: Gallenblasenkarzinom, HCC: Hepatozelluläres Karzinom, PSC: Primär sklerosierende Cholangitis, CU: Colitis Ulcerosa, RF: Risikofaktor.

## 1.2 Diagnostik

Nur etwas mehr als die Hälfte der PatientInnen ist bei Erstdiagnose der PSC symptomatisch [8]. In der klinischen Untersuchung zum Diagnosezeitpunkt zeigt sich am häufigsten eine Hepatosplenomegalie. Werden wiederholt erhöhte laborchemische Cholestaseparameter entdeckt – oft ein Zufallsbefund - (Abbildung 1), müssen Erkrankungen, welche den Gallenfluss stören, und sekundäre Ursachen ausgeschlossen werden. Führend ist meistens eine erhöhte AP, neben einer Erhöhung der  $\gamma$ -GT und den Transaminasen. Die Diagnose ist jedoch auch ohne eine abnorme AP möglich [2]. Gallensteine, maligne Erkrankungen wie das CCC oder eine Ischämie sollten als Ursache der Cholestase ausgeschlossen werden. Diagnostik der Wahl ist dabei der Ultraschall. Dabei werden auch weitere mögliche Befunde wie beispielsweise eine Röhrenstenose des Ductus hepaticus communis (DHC) bei chronischer

## 1 Einleitung

Pankreatitis sichtbar [32]. Da ein Normalbefund der biochemischen Laborparameter keine PSC-Diagnose ausschließt, wird gemäß aktueller deutscher Leitlinie als Diagnostik der ersten Wahl die Magnetresonanz-Cholangiopankreatographie (MRCP) in einem weiteren Schritt durchgeführt [2]. Durch dieses Verfahren können die charakteristischen Veränderungen der Gallengänge dargestellt werden. Die Magnetresonanztomographie (MRT) hat eine Sensitivität von 0,86 und eine Spezifität 0,94 für die Diagnose der PSC [23]. Allerdings ist die Aussagekraft im Frühstadium und bei Vorhandensein einer Leberzirrhose begrenzt [23].

Die endoskopisch retrograde Cholangiographie (ERC) wird nur noch im Rahmen von Interventionen, und nicht mehr zu diagnostischen Zwecken durchgeführt. Bei der Durchführung stellen sich typische perlschnurartige Veränderungen, das heißt multifokale Strikturen im Wechsel mit segmentalen Dilatationen, dar. Im Rahmen dieser Intervention kann mittels Ballondilatation therapiert werden. Dabei sind Dilatationen dominanter Stenosen mit einem besseren Überleben der PSC PatientInnen assoziiert [30]. Bei einer *small-duct* PSC besteht keine Notwendigkeit einer ERC, da in der Regel keine interventionsbedürftigen Veränderungen bestehen. Allerdings sind mit 90-95% die Mehrheit der PatientInnen von einer *large-duct* PSC betroffen [24]. Bei der *small-duct* PSC finden sich typische histologische und laborchemische Veränderungen [24]. Um die restlichen fünf bis zehn Prozent der Erkrankten zu diagnostizieren, kann eine Leberbiopsie vorgenommen werden. Aufgrund mangelhafter Sensitivität und ihrem invasiven Charakter reduziert sich die Bedeutung der Biopsie in der Diagnosestellung auf die Darstellung der *small-duct* PSC. Histologisch können eine periduktale Fibrose mit Entzündungszeichen, Gallengangsproliferation und Duktopenie als typische Zeichen nachgewiesen werden. Man beschreibt das Bild der Fibrose als zwiebelhautartig [33, 34]. Die Entzündung sowie Histologie der chronischen Hepatitis werden nach Desmet und Scheuer in Stadien eingeteilt [35]. In einem weiteren diagnostischen Schritt wird zum Ausschluss einer CED eine Koloskopie durchgeführt. Bei Feststellung einer AIH, handelt es sich um ein sogenanntes *Overlap*-Syndrom [25].



## 1 Einleitung

Therapiert werden alle entzündlichen Gallengangserkrankungen symptomatisch mit UDC, einer synthetischen Gallensäure, die den Gallenfluss fördert und die Gallenviskosität reduziert, [5] wobei der Einsatz des Medikamentes umstritten ist. Studien wiesen nach, dass UDC zu einer Verbesserung des Pruritus führte, was mit einer Normalisierung laborchemischer Leberparameter einherging, allerdings beeinflusste UDC die Überlebensraten nicht [36]. UDC wird als *off-label* Therapie eingesetzt. Gemäß der Leitlinie Autoimmune Lebererkrankungen der Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) kann UDCA in einer mittleren Dosis von 13-23 mg/ kg Körpergewicht pro Tag (mg/kg KG/d) zu einer Verbesserung der Laborparameter, insbesondere der AP, und bei einer Dosierung von < 25 mg/kg KG/d zu einer leichten Absenkung des Risikos für die Entwicklung kolorektaler Dysplasien bei Patienten mit PSC und CU führen. Die DGVS rät von einer hochdosierten UDCA-Therapie zur Chemoprävention mit 28-30 mg/kg KG/d ab, da dies wiederum zu einem erhöhten Risiko für kolorektale Dysplasien führen könne. Laut der aktuellen Empfehlung möge dementsprechend keine hochdosierte UDCA-Therapie (28–30mg/kg KG/d) zur Therapie der PSC noch zur Chemoprävention bei PSC und CU eingesetzt werden. Es gäbe derzeit keine ausreichenden Daten für eine Chemoprävention [2]. Die *European Association for the Study of the Liver* (EASL) gibt aufgrund der fehlenden Evidenz keine Empfehlung ab [37]. Die *American Association for the Study of Liver Diseases* (AASLD) rät von einer UDC-Gabe bei PSC PatientInnen ab [38]. Eine erhöhte Dosis (28-30 mg/kg KG/d) zeigte in einer großen amerikanischen Langzeit-Studie keinen Vorteil, sondern musste durch die hohe Frequenz an unerwünschten Ereignissen wie Leberzirrhose, LTX und Tod abgebrochen werden [39]. Auch kolorektale Neoplasien traten in dieser Studie bei hochdosierter Gabe von UDC häufiger auf als in der Placebo-Gruppe [39].

Bei einer akuten Cholangitis kann es sich um eine medizinische Notfallsituation handeln, in der eine intravenöse Antibiose zur Prävention einer Sepsis notwendig ist [1]. Auch eine biliäre Drainage kann in diesem Fall indiziert sein. Einen Überlebensvorteil ohne LTX haben solche PatientInnen, bei denen während endoskopischer Interventionen Strikturen bzw. Stenosen dilatiert werden, bevor eine ESLD erreicht ist. Als effektive Prozedur hat sich während einer endoskopischen Intervention eine Ballondilatation mit oder ohne Implantation eines Gallengangstents herausgestellt [40].

## 1 Einleitung

Eine LTX ist bei fortgeschrittener Erkrankung und heutzutage teils auch im Falle eines HCC oder CCC indiziert [41]. Dabei wird in Deutschland und den USA der *Model for End-Stage Live Disease –Score* (MELD–Score) zur Indikationsstellung der LTX genutzt [42]. Aufgrund des zumeist niedrigen MELD-Scores bei PSC PatientInnen wurden sogenannte *standard exceptions* (SE)-Kriterien entwickelt, bei deren Erfüllung eine Priorisierung vorgenommen werden kann. Diese PSC-spezifischen SE-Kriterien umfassen nach den Richtlinien der Bundesärztekammer erstens zwei klinische Sepsisperioden in sechs Monaten, die keinen interventionellen Hintergrund haben und weder interventionell noch antibiotisch sanierbar sind, zweitens die Stenosierung dominanter Gallenwege und drittens einen um 10% reduzierten Body-Maß-Index in 12 Monaten[43].

Bisherig verfügbare Daten zeigen, dass bei 20% der PatientInnen fünf Jahre nach LTX wieder ein PSC-typisches Bild festgestellt wird, wobei eine Transplantatdysfunktion und Cholangitis auftreten können. Allgemein zeigt die LTX mit 1- und 5-Jahres Überlebensraten von 90 und 70-85% gute Ergebnisse. In 8,6-27% wird eine Rekurrenz der PSC beobachtet [44]. Auch ein Wiederauftreten der CED wird trotz Immunsuppression beobachtet [45].

In einer weiteren Studie wurde bei PatientInnen mit unzureichendem Ansprechen auf UDC zusätzlich Fibrate verschrieben, was zu einer Reduktion der AP sowie des Pruritus führte [46].

Aufgrund der geringen medikamentösen Möglichkeiten liegt der Schwerpunkt auf Sekundärprävention und damit Früherkennung von Komplikationen. Laut DGVS sollten bei stabilem Befund alle drei bis sechs Monate Laborwertkontrollen (AP,  $\gamma$ GT, Transaminasen und Bilirubin) stattfinden. Zusätzlich können die Bestimmung der Tumormarker *Carbohydrate antigen 19-9* (CA19-9) und *Carcinoembryonic Antigen* (CEA) zur möglichen Frühdiagnostik eines CCC bestimmt werden. Desweiteren empfiehlt die DGVS bei PSC und CED jährliche Koloskopien. Bei PSC PatientInnen ohne CED ist eine Ileokoloskopie in einem Zeitraum von drei bis fünf Jahren zur Früherkennung einer CED empfohlen. Alle 6-12 Monate wird eine Abdomen-Sonographie zur Untersuchung auf Leberzirrhose, Milzgröße, Gallenwegsveränderungen, Leberaumforderungen und Gallenblasenpolypen angeraten. Bei Zirrhose-PatientInnen gibt es eine halbjährliche Empfehlung zur Abdomen-Sonographie. Alle

## 1 Einleitung

12-24 Monate kann eine Verlaufskontrolle per MRT stattfinden. Bei Auftreten dominanter Stenosen gibt es eine starke Empfehlung zur ERCP mit Bürstenzytologie [2].

In der nachfolgenden Tabelle werden die aktuellen nationalen und internationalen Therapie-Empfehlungen für die PSC übersichtlich aufgeführt (Tabelle 2).

**Tabelle 2: Medikamentöse Therapieempfehlungen zur PSC von DVGS, EASL, AASLD.**

| DGVS 2017   | EASL 2009  | AASLD 2010  |
|---|--|---|
| <b>Empfehlung zur Therapie mit UDC 13-23 mg/kg KG/d</b>   | Keine spezifische Empfehlung für die standardmäßige UDC-Therapie PSC | Abraten von UDC als Chemoprävention für kolorektale Karzinome bei PatientInnen mit CU und PSC |
| <b>Abraten von hochdosierter UDC-Therapie (28–30mg/kg KG/d) zur Chemoprävention bei PSC und CU oder CCC</b> |  |   |

mg/kg KG/d: Milligramm pro Kilogramm Körpergewicht pro Tag, DGVS: Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten, EASL: European Association for the Study of the Liver, AASLD: American Association for the Study of Liver Diseases, UDC: Ursodesoxycholsäure, PSC: Primär sklerosierende Cholangitis, CU: Colitis ulcerosa, CCC: Cholangiozelluläres Karzinom.

### 1.3.1 Therapie-Ansprechen auf Ursodesoxycholsäure

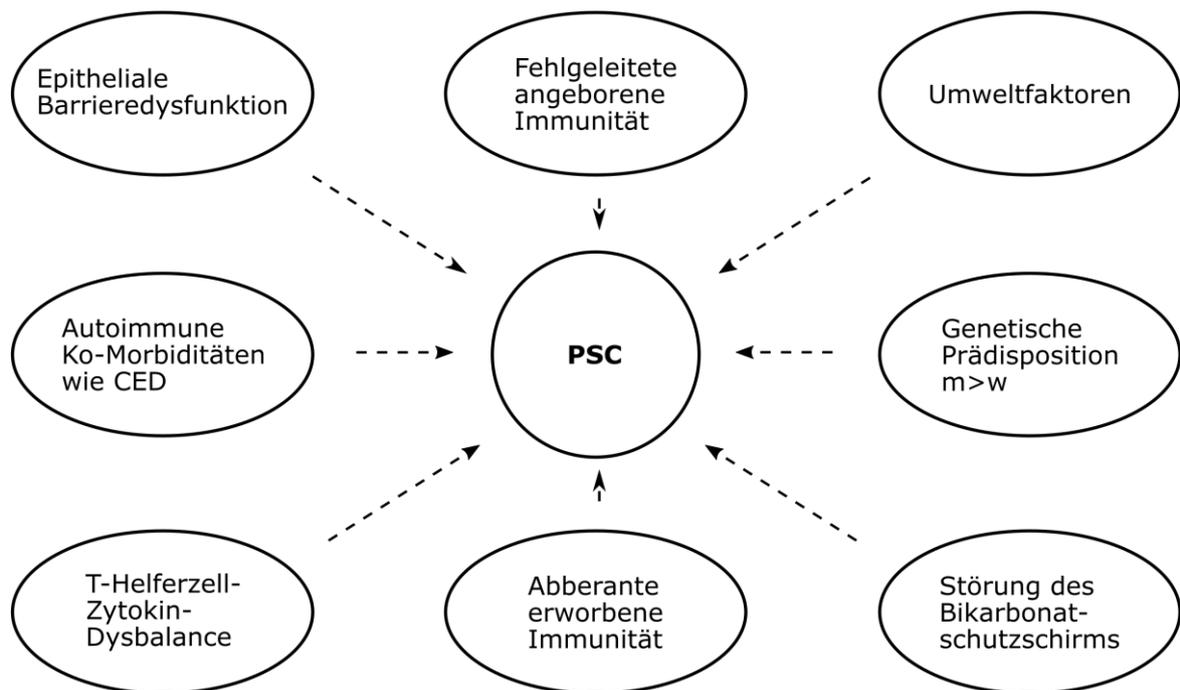
Zur Evaluierung des Therapie-Ansprechens der PSC auf UDC werden die Cholestaseparameter herangezogen, insbesondere die AP [47], wobei die AP bei der PSC im Gegensatz zur PBC bisher nicht als prädiktiver Faktor für den Langzeitverlauf validiert wurde.

# 1 Einleitung

## 1.4 Faktoren der Ätiopathogenese

Es wird von einer multifaktoriellen Genese der PSC ausgegangen (Abbildung 2). Die genetische Prädisposition [48] nimmt eine wesentliche Rolle ein. Es konnte festgestellt werden, dass Verwandte ersten Grades im Vergleich zur Normalbevölkerung ein 100-fach erhöhtes Risiko haben, ebenfalls an einer PSC zu erkranken [49]. Außerdem wurde eine starke Assoziation mit dem Haplotypen HLA-B in einer genomweiten Analyse festgestellt [50]. Darüber hinaus besteht bei mehr als drei Viertel der Fälle eine hohe Assoziation zu anderen Autoimmunerkrankungen wie CED, AIH und autoimmuner Thyreoiditis [51]. Dies deutet auf eine autoimmune Genese hin, allerdings steht das schlechte Ansprechen einer PSC auf eine immunsuppressive Therapie hierzu im Widerspruch. Die starke Assoziation der PSC mit CED legt eine pathogene Interaktion des Darms mit der Leber nahe. In der Literatur wurde die Translokation von Bakterien und Bakterienbestandteilen des Darmes in das portovenöses System als sogenannte *Leaky gut*-Hypothese beschrieben [52]. Daneben postuliert die sogenannte *aberrant homing*-Hypothese eine enterohepatische Zirkulation von Lymphozyten, wobei zum Zeitpunkt der intestinalen Inflammation T-Gedächtniszellen entstehen, welche auch noch nach erfolgter Proktokolektomie in die Leber migrieren und an der Pathogenese einer PSC beteiligt sein könnten [53]. Der Einfluss des Mikrobioms auf die Leber und umgekehrt wird als *gut-liver axis* bezeichnet [54]. Dabei könnten besonders anormale angeborene *Toll-like Receptor* (TLR)-vermittelte Immunreaktionen auf intestinale *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) auf der Ebene der biliären Epithelzellen relevant sein. Über die Pfortader gelangen intestinale PAMPs in die Leber. In der Pfortader können sie unter physiologischen Bedingungen ebenfalls nachgewiesen werden [55]. Cholangiozyten werden nach dem momentanen Forschungsstand nicht mehr nur als passives Ziel einer angenommenen autoimmunen Entzündungsreaktion verstanden. Sie scheinen vielmehr selbst aktiv zum Fortschreiten der Entzündungsreaktion beizutragen [56].

## 1 Einleitung



**Abbildung 2:** Modell der multifaktoriellen Ätiologie der PSC.

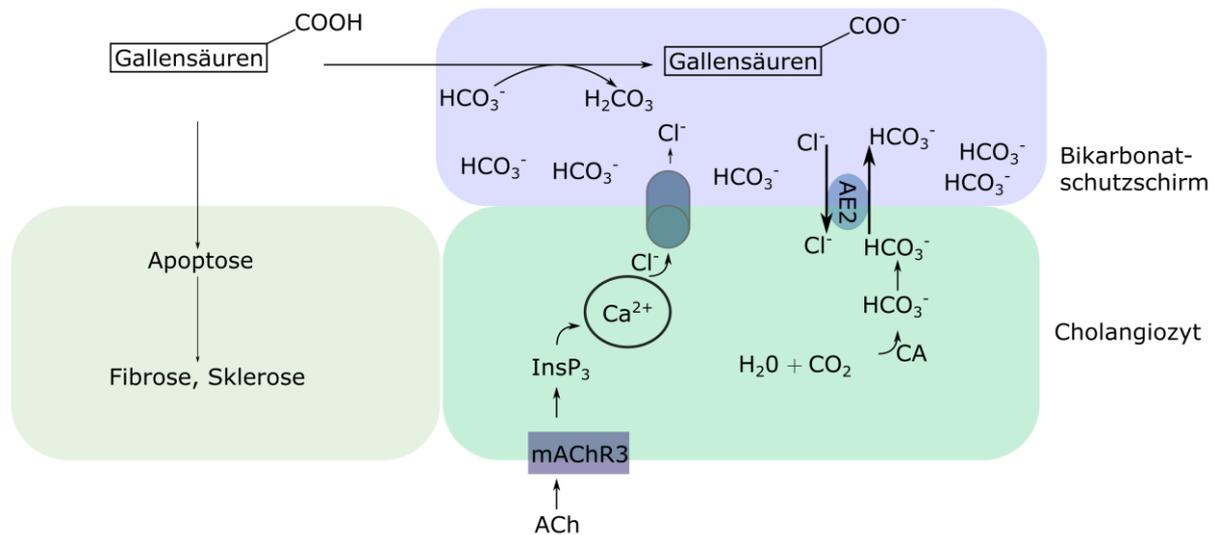
### 1.5 Hypothetisches Modell zur Rolle des muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3 (mAChR3) bei der Pathogenese der PSC

Die Funktion des hypothetischen Bikarbonat-Schutzschirms beruht auf dem muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3 (mAChR3), welcher überwiegend im Gallengangsepithel zu finden ist [57, 58]. Cholangiotoxische Gallensäuren können durch ihren hydrophoben, apolaren Charakter über die luminalen Zellmembran des Gallengangsepithels diffundieren. Das Gallengangsepithel wiederum sezerniert große Mengen an Bikarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ). Durch die Anhebung des pH-Wertes nahe der apikalen Zellmembran besteht ein Schutz gegen die Gallensäuren. Es zeigt sich eine Toxizität in Form erhöhter Gallensäure-induzierter Apoptoseraten.

Die folgende Abbildung zeigt die Aktivierung des basolateralen mAChR3 durch Acetylcholin (ACh), welche über eine Erhöhung der intrazellulären Inosytriphosphat-Konzentration

# 1 Einleitung

(InsP<sub>3</sub>) einen intrazellulären Anstieg der Kalziumkonzentration (Ca<sup>2+</sup>) auslöst (Abbildung 3). Dadurch kommt es zu einer Aktivierung zyklischen Adenosinmonophosphats (cAMP) und konsekutiv zu vermehrtem Kalziumchloridtransport. Dabei steigert sich der Chloridionenausstrom (Cl<sup>-</sup>). Der Anion-Exchanger 2 (AE2) wird aktiviert, wodurch wiederum Bikarbonat (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) in das Gallengangslumen sezerniert wird [58].



**Abbildung 3: Acetylcholinrezeptoren vom Typ 3 (mAChR3) im hypothetischen Modell des „Bikarbonat-Schutzschirms“ des Gallengangsepithels.** Ach: Acetylcholin, AE2: Anion-Exchanger 2, CA: Carboanhydrase, Ca<sup>2+</sup>: Calciumion, CaCl: Calcium-Chlorid-Austauscher, Cl<sup>-</sup>: Chloridion, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>: Bikarbonat, InsP<sub>3</sub>: Inosylphosphat-3, mAChR3: muskarinerges Acetylcholinrezeptor vom Typ 3.

Die Gallensäuren verlieren in diesem alkalischen Milieu ihr Proton. In der hydrophilen geladenen Form können sie die Membran nicht mehr passieren. Das Gallengangsepithel ist dementsprechend vor der Toxizität der Gallensäuren geschützt. Im Mausmodell wurde in früheren Studien mit Hilfe synthetischer Blockade der mAChR3 in intestinalen Epithelzellen bereits gezeigt, dass durch Inhibition der HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Sekretion der Bikarbonat-Schutzschirm beeinträchtigt wird [59], und die verminderte Bikarbonatsekretion im Knock-out-Mausmodell mit einer erhöhten Anfälligkeit für cholestatische Lebererkrankungen einhergeht [60]. Zudem wurde eine ACh-induzierte Modulation der *tight-junction* vermittelten Barrierefunktion des Gallengangsepithels unter dem Einfluss pro-inflammatorischer TH-Zytokine [61, 62] oder intestinaler Endotoxine [63] in intestinalen Epithelzellen in neueren Studien belegt. Der Effekt

## 1 Einleitung

von nicht-neuronalem ACh auf die Migration [64] und die Proliferation [65] intestinaler Epithelzellen wurde in weiteren Studien beschrieben.

### **1.6 Spezifische Autoantikörper gegen den mAChR3 als neues hypothetisches Pathogenese-Modell bei der PSC**

In der Literatur wird beschrieben, dass mAChR3-Auto-AK die *tight junction*-vermittelte Barrierefunktion des Gallengangsepithels beeinträchtigen. Unsere Arbeitsgruppe zu chronisch-entzündlichen Gallenwegserkrankungen am Interdisziplinären Leberzentrum der Charité – Universitätsmedizin Berlin, (CVK) beschäftigt sich mit der Fragestellung, ob mAChR3-Auto-AK über eine Modulation des protektiven Bikarbonat-Schutzschirmes und der *tight-junction* vermittelten Barrierefunktion biliärer Epithelzellen an der Pathogenese chronisch-entzündlicher Gallenwegserkrankungen wie der PSC beteiligt sind. In Zusammenarbeit mit Arbeitsgruppen der Universitätskliniken Tübingen und Leipzig wird diese These überprüft.

Bisher sind mAChR3 Auto-AK vor allem Gegenstand der Pathogeneseforschung der PBC und ihrer typischen auto-immunen *dry-gland* Begleiterscheinungen, wie Sicca-Syndrom und Sjögren-Syndrom [66], da sie auch in exokrinen Drüsen und glatten Muskelzellen vorkommen.

Dabei haben Berg et al. und Tsuboi et al. bereits die Prävalenz der mAChR3 Auto-AK bei der mit der PSC verwandten PBC untersucht [67, 68].

Bei einer dieser Untersuchungen zur Bedeutung von mAChR3 Auto-AK bei der PBC wurden erstmalig auch zehn Seren von PSC PatientInnen untersucht. Dabei wurden mAChR3 Auto-AK gegen die extrazelluläre Domäne des humanen Rezeptor auf der basolateralen Membran durch *enzyme-linked immunoassay* (ELISA) identifiziert [67]. Daneben wurden die Seren von 90 PatientInnen mit PBC, 40 mit chronischer Hepatitis, 21 mit nicht-alkoholischer Steatohepatitis (NASH), 14 mit obstruktiver Cholestase, zehn mit medikamentös induziertem Leberschaden und 42 gesunden Kontrollgruppen auf mAChR3-Auto-AK getestet. Es wurden fünf Subtypen des mAChR3 (M1R-M5R) identifiziert. Insbesondere die Auto-AK, die mit der ersten Schleife

## 1 Einleitung

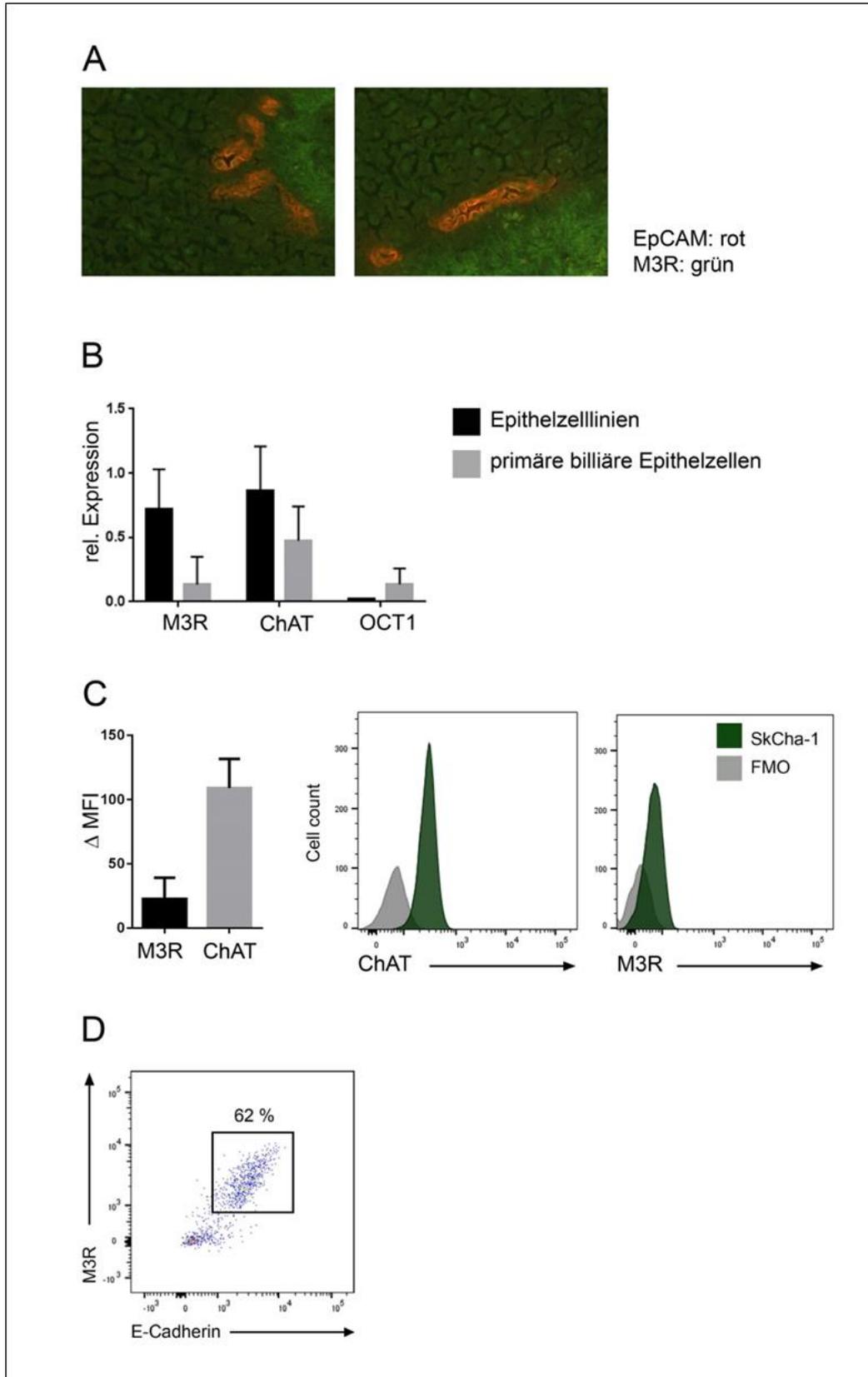
des mAChR3 reagierten, zeigten eine moderate Sensitivität von 73,3% aber vor allem eine hohe Spezifität von 80-100% [67].

### **1.7 Vorarbeiten der Arbeitsgruppe chronisch-entzündliche Gallenwegserkrankungen am Interdisziplinären Leberzentrum der Charité – Universitätsmedizin Berlin, CVK**

Unsere Arbeitsgruppe hat nun erstmalig auch die Funktionalität der mAChR3 Auto-AK getestet. Zur Bestimmung der mAChR3 Auto-AK nutzte unsere Arbeitsgruppe ein Lumineszenz-basiertes in vitro Zellkulturmodell unter der Verwendung von CHO-Zellen, welche den mAChR3 überexprimieren. Die Zellen wurden mit Immunglobulinen aus Seren von PatientInnen mit verschiedenen Autoimmunerkrankungen inkubiert. Dabei wurde unter anderem die Existenz der mAChR3 Auto-AK in der Kohorte der vorliegenden Studie nachgewiesen. Daraufhin wurde die Funktionalität der Auto-AK überprüft.

In Vorarbeiten der Arbeitsgruppe konnte die Spezifität des mAChR3 in der Leber für das Gallengangsepithel (Abbildung 4) analog vorheriger Arbeiten demonstriert werden.

# 1 Einleitung



## 1 Einleitung

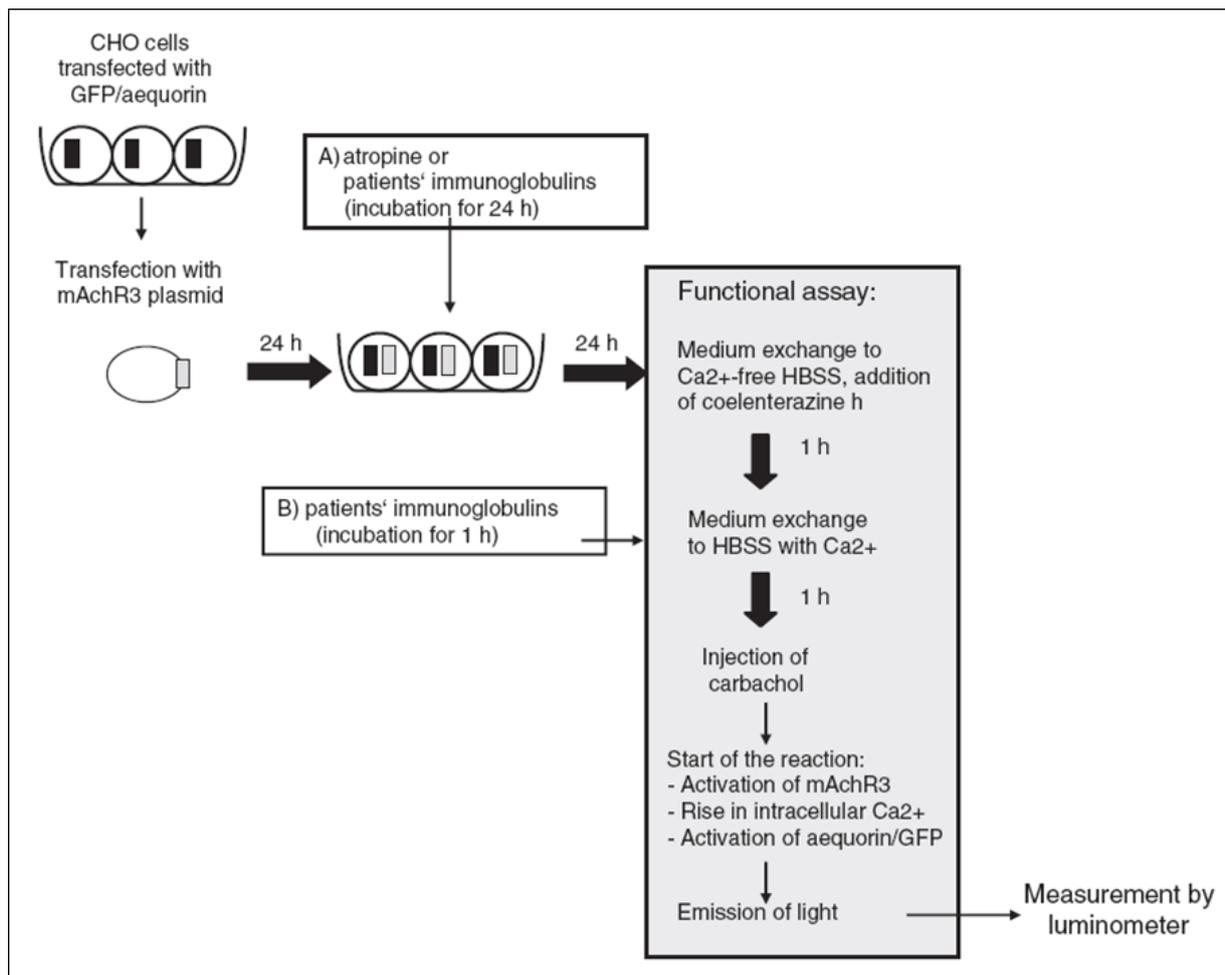
**Abbildung 4: Immunhistologischer Nachweis von mAChR3 (hier:M3R) im intrahepatischen Gallengangsepithel.** EpCAM: Epithelial Cell Adhesion Molecule , ChAT: Acetylcholintransferase, MFI:  $\Delta$  mittlere Fluoreszenzintensität, OCT 1: Organic Cation Transporter 1.

Der mAChR3 wird in der Leber von biliären Epithelzellen (hBEC) exprimiert (Teilabbildung A). Zum Nachweis wurden Gefrierschnitte gesunder, humaner Leber mit Auto-AK gegen mAChR3 (grün) und dem Epithelzellmarker EpCAM (rot) gefärbt. Es wurde eine quantitative PCR-Analyse humaner Epithelzelllinien und isolierter biliärer Epithelzellen durchgeführt. Auf der Teilabbildung B ist die mRNA Expression von mAChR3 und der Acetylcholintransferase (ChAT) zu sehen. Die ChAT ist für die Synthese von Acetylcholin entscheidend. Sowohl der mAChR3 (hier: M3R) als auch die ChAT werden von humanen Epithelzellen exprimiert (Teilabbildung C). Diese ist als  $\Delta$  mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) dargestellt. Die MFI wurde jeweils der *Fluorescence minus one* (FMO) Kontrolle von den gefärbten Zellen subtrahiert. Im rechten Teil der Abbildung findet sich ein repräsentatives Histogramm der mAChR3 und ChAT-Expression in Sk-Cha-1 Zellen (grün). Die Kontrolle *Fluorescence minus one* (FMO) ist in grau dargestellt. mAChR3 werden von isolierten primären hBEC exprimiert (Teilabbildung D). Die Zellen wurden aus gesunder Leber isoliert und als lebende, CD45-, EpCAM+ Zellen definiert.

Die Ergebnisse der genannten Vorarbeiten legen somit erstens die Existenz von mAChR3-Auto-AK bei PSC PatientInnen nahe und weisen zweitens auf eine Gallengangsspezifität der mAChR3 in der Leber hin. Die Funktionalität dieser Auto-AK wurde mit Hilfe eines in vitro Systems getestet [69]. Es erfolgte die Bestimmung des mAChR3 Auto-AK-Status und anschließend wurde die Funktionalität der Auto-AK gegen mAChR3 mit einem Lumineszenz-basierten Assay untersucht. Zellkulturversuche mit *Chinese Hamster Ovary Zellen* - (CHO-Zellen) mit überexprimierten mAChR3-Auto-AK [69] wurden mit Immunglobulinen aus Seren von PatientInnen mit Sjögren-Syndrom inkubiert. Der Effekt auf den mAChR3 wurde anhand der Veränderung des Calciumeinstroms luminometrisch gemessen (Abbildung 5). Die Normwerte wurden nach Preuss et al. festgelegt [69]. Dafür wurden Grenzwertoptimierungskurven anhand der luminometrisch gemessenen Funktionalität des mAChR3 unter Zugabe der isolierten Auto-AK von PSC PatientInnen und einer gesunden Kontrollgruppe verglichen und eine Spezifität von 95% angestrebt. Werte kleiner 80 relative

# 1 Einleitung

Lichteinheiten galten als inhibierend, da die Funktionsfähigkeit der mAChR3 kleiner 80% betrug. Im Gegensatz dazu gelten Werte größer 80 relative Lichteinheiten als nicht-inhibierend, da die Funktionsfähigkeit der mAChR3 über 80% war. In der vorliegenden Arbeit wird festgelegt, dass die inhibitorischen AK als mAChR3 positiv (mAChR3+) und die nicht-inhibitorischen AK als mAChR3 negativ (mAChR3-) bezeichnet werden.



**Abbildung 5: Lumineszenz-basierter Assay zur Funktionalitätsprüfung spezifischer Autoantikörper gegen muskarinerge Acetylcholinrezeptoren vom Typ 3.** CHO-Zellen wurden mit mAChR3-Plasmiden transfiziert und mit Immunglobulinen von PatientInnen inkubiert. Anschließend wurden die transfizierten CHO Zellen mit Carbachol stimuliert und mit einem Luminometer die Emission von Licht gemessen. CHO: Chinese Hamster Ovary, GFP: green fluorescent protein, mAChR3: muscarinic acetylcholine type 3 receptor, Ca<sup>2+</sup>: calcium, HBSS: Hank's balanced salt solution. Modifiziert nach Preuss et al [69].

# 1 Einleitung

Ist der mAChR3 durch Auto-AK blockiert, werde die Gallensäuren vermutlich weniger alkalisiert. Durch das Eindringen der cholangiotoxischen Gallensäuren in die Cholangiozyten werden entzündliche Prozesse weiter unterhalten.

## 1.8 Zusammenfassung und Ziel dieser Arbeit

Die PSC ist eine chronische-entzündliche Gallenwegserkrankung, die sich durch einen variablen Verlauf auszeichnet. Die progressive Cholestase kann über intermittierende, zum Teil lebensbedrohliche Cholangitiden bis zur biliären Zirrhose führen. Sie ist bisher nicht kausal behandelbar. Diese Arbeit geht der Frage nach, ob spezifische inhibitorische mAChR3-Auto-AK durch die konsekutive Dysfunktionalität des mAChR3 einen möglichen Einfluss auf den klinischen Verlauf der PSC haben könnten. Dabei wird zunächst die Prävalenz von mAChR3+ Auto-AK bei PSC PatientInnen im Vergleich zu einer gesunden Population beschrieben. In Abhängigkeit ihres mAChR3-Status werden die PSC PatientInnen demographisch, klinisch und laborchemisch charakterisiert und verglichen. Schließlich wird das Therapieansprechen anhand der Entwicklung der *Baseline*-Laborparameter evaluiert. Zudem wird das Langzeitüberleben dargestellt. Desweiteren wird die Rate an LTX in Abhängigkeit vom mAChR3-Status betrachtet und evaluiert, wie in der lebertransplantierten Kohorte PSC-Rezidive und *ischemic type biliary lesion* (ITBL) ausfallen.

Die vorliegende Arbeit umfasst somit folgende wesentliche Ziele:

- 1.) Bestimmung der Prävalenz von mAChR3 Auto-AK bei PatientInnen mit PSC im Vergleich zur PBC und zu einer gesunden Kontrollgruppe.
- 2.) Epidemiologische Charakterisierung des Gesamtkollektivs in Abhängigkeit des mAChR3 Auto-AK-Status.
- 3.) Charakterisierung des klinischen Krankheitsverlaufes von PSC PatientInnen in Abhängigkeit des mAChR3 Auto-AK-Status.

## 1 Einleitung

- 4.) Darstellung der *Baseline*-Charakteristika zur Diagnosestellung des laborchemischen Verlaufes mit Evaluierung des Therapie-Ansprechens nach einem Jahr, fünf Jahren und zehn Jahren in Abhängigkeit des mAChR3 Auto-AK Status.
- 5.) Darstellung der funktionsdiagnostischen und bildmorphologischen Krankheitsbefunde und Komplikationen im Verlauf.
- 6.) Illustration des transplantfreien Überlebens in Abhängigkeit des mAChR3 Auto-AK Status.
- 7.) Auflistung möglicher Prädiktoren für eine LTX.
- 8.) Evaluierung des *Outcomes* in der Gruppe der Lebertransplantierten unter Einbeziehung der Prävalenz eines Rezidivs nach erfolgter LTX in Abhängigkeit des mAChR3- Auto-AK-Status.

## 2 Methoden

## 2 Methoden

### 2.1 Einschluss der PatientInnen

Der vorliegenden Arbeit liegen die Daten aller PatientInnen mit einer PSC zu Grunde, welche sich in dem Zeitraum von 1998 bis 2016 im Interdisziplinären Leberzentrum der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie oder an der Ambulanz für Lebertransplantation der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie des Campus Virchow-Klinikums (CVK) der Charité – Universitätsmedizin Berlin in Behandlung befanden. Es wurden alle PatientInnen aus dem ambulanten als auch dem stationären Bereich systematisch registriert.

Im Rahmen dieser retrospektiven Analyse wurde Alter und mACHR3 Auto-AK-Status erfasst, sowie Parameter zur Charakterisierung des Krankheitsverlaufs von PatientInnen gesammelt. Diese Daten wurden aus den PatientInnen-Akten des Interdisziplinären Leberzentrums der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité – Universitätsmedizin (CVK), dem Zentralarchiv des Klinikums und dem klinikinternen Programm SAP, welches der Dokumentation medizinischer Befunde dient, erhoben. Darüber hinaus wurden alle relevanten Daten externer medizinischer Einrichtungen miterfasst.

Die gesicherte PSC-Diagnose und die Bestimmung des mACHR3 Auto-AK waren Voraussetzung für den Einschluss in die vorliegende Studie. Die Diagnosekriterien der eingeschlossenen PatientInnen entsprechen den aktuellen Leitlinien: Es lag im Labor eine Cholestase vor und im Cholangiogramm zeigte sich ein PSC typisches Bild. In wenigen unklaren Fällen wurde eine Leberbiopsie zur Diagnosesicherung benötigt. Von der Langzeitbeobachtung ausgeschlossen wurden ungeklärte Fälle und andere Cholangio- bzw. Hepatopathien. Der Ein- und Ausschluss von PatientInnen ist in Abbildung 6 dargestellt.

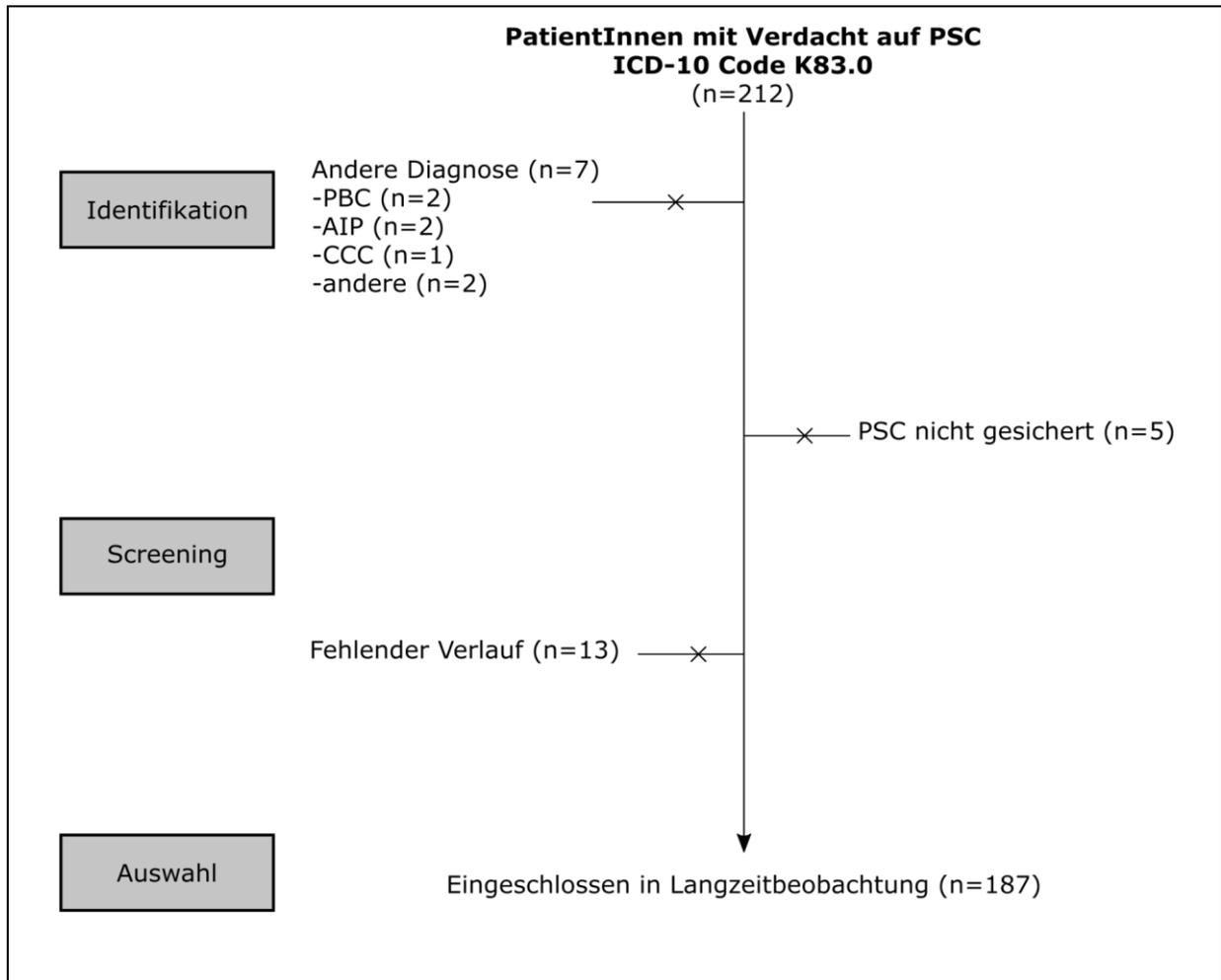
Die Daten wurden mit den Ergebnissen der Untersuchungen von Serumproben von PatientInnen und immunhistochemischen Untersuchungen Gewebeschnitten von Körperspendern des Instituts für Anatomie Leipzig korreliert.

## 2 Methoden

Es wurden zwei separate Gruppen von PatientInnen für die Analyse betrachtet: In der Hauptsache wurden den Daten des Interdisziplinären Leberzentrums der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin (CVK) zusammengetragen und ausgewertet.

Die Gruppe von PatientInnen aus der Ambulanz für Lebertransplantation der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie des Charité- Universitätsmedizin (CVK) wurde lediglich für den Vergleich der Rezidivraten und das Auftreten einer ITBL nach LTX in Abhängigkeit des mAChR3 Auto-AK-Status herangezogen. Eine Trennung ist diese Gruppen erfolgte, da im Zusammenhang mit den chirurgischen PatientInnen vergleichsweise wenige präoperative Daten zur Verfügung standen. Die meisten PatientInnen waren zur LTX an die Charité verwiesen worden.

## 2 Methoden



**Abbildung 6: Einschluss und Ausschluss der PatientInnen in die Langzeitbeobachtung.** CCC: Cholangiozelluläres Karzinom, PSC: primär sklerosierende Cholangitis, PBC: primär biliäre Zirrhose, AIP: Autoimmunpankreatitis.

### 2.2 Beobachtungszeitraum

Es wurden alle PatientInnen mit einer PSC registriert, die sich zwischen 1998 und 2016 in der Sprechstunde des Interdisziplinären Leberzentrums der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie oder der Ambulanz für Lebertransplantation der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der Charité- Universitätsmedizin (CVK) in Behandlung befanden. Viele PatientInnen befanden sich dort bereits mehrere Jahre in

## 2 Methoden

Betreuung. Dementsprechend liegen die Daten der Erstvorstellung in dem Zeitraum zwischen dem 15.06.1990 und dem 02.05.2016.

### 2.3 Datenerhebung

Mittels elektronischer Recherche und Durchsicht von Patientenakten wurden demographische, anamnestische, klinische und diagnostische Daten erhoben. Das Datum der Erstvorstellung, der Erstdiagnose, des Therapiebeginns mit UDC, der Zeit zwischen der ersten abnormen Biochemie und Therapieeinleitung, Alter zu Therapiebeginn, Therapiezeitraum und UDC-Dosierung in der Patientenakte fanden dabei - wenn möglich- Beachtung.

#### 2.3.1 Erfasste Befunde bei Erstvorstellung

Die Serumkonzentrationen der mAChR3 Auto-AK aller PatientInnen wurden erhoben. Außerdem wurden anamnestische Daten wie die familiäre Prädisposition für eine Lebererkrankung und/oder eine Autoimmunerkrankung, Nikotin-, Alkoholkonsum, Ikterus und Beschwerden wie Müdigkeit, Pruritus, Fieber und abdominelle Schmerzen bei Erstvorstellung dokumentiert. Die klinischen Angaben bei Erstvorstellung umfassten ebenso Alter, Geschlecht, Größe, Gewicht und BMI. Desweiteren wurden alle relevanten biochemischen *Baseline*-Parameter, inklusive cholestatischer Verlaufsparemeter wie alkalische Phosphatase und  $\gamma$ -GT sowie Transaminasen, Albumin, Quick, Kreatinin, Hämoglobin, Leukozyten, Thrombozyten, Immunglobulin G, Alpha-Fetoprotein (AFP) und CA 19-9 erfasst. Als häufige mit PSC assoziierte Komorbiditäten wurden CED, AIH, CCC, GBC, CRC und HCC und sämtliche Nebendiagnosen zusätzlich dokumentiert.

#### 2.3.2 Erfasste Befunde in der Verlaufsdokumentation

Die genutzten Datenbanken umfassen den gesamten verfügbaren Verlauf der biochemischen *Baseline*-Parameter, inklusive cholestatischer Verlaufsparemeter und die oben genannten

## 2 Methoden

Laborparameter wurden systematisch alle drei bis sechs Monate erhoben. Detaillierte Angaben zu verfügbaren Leber-Histologien der transplantierten Kohorte (inklusive Entzündungsaktivität, Fibrosestadium und Gallengangsschäden) der PatientInnen wurden ebenfalls dokumentiert. Der Verlauf der Klinik und die Medikation mit UDC unter Beachtung aller Dosis-Anpassungen, sowie Alter bei UDC-Beginn und Zeitraum zwischen erstmalig erhöhten Cholestaseparametern und erster UDC-Gabe, wurden - sofern es möglich war - ebenfalls dokumentiert. Die Befunde aller Sonographien wurden auf Pathologien durchgesehen. Es wurde das Vorhandensein einer Parenchymveränderung, das heißt Fibrose oder Zirrhose und einer Splenomegalie dokumentiert. Aus den Befunden der ERCP und MRCP wurden typische Veränderungen der Gallengänge wie Stenosen und Dilatationen dokumentiert. Dabei wurde zwischen intra- und extrahepatischen Gallengangsveränderungen differenziert. Sofern die PatientInnen transplantiert worden sind, wurde das Datum der LTX erfasst. Leberbiopsien wurden in der Regel nur bei transplantierten PatientInnen und PatientInnen mit Verdacht auf eine *small-duct* PSC durchgeführt. *Staging* und *Grading* erfolgte nach etablierten Kriterien nach Desmet und Scheuer [35].

Zur besseren Vergleichbarkeit von Messwerten zur Elimination von laborabhängigen Schwankungen sind Bilirubin, AST, ALT, AP, und  $\gamma$ GT in *upper limit of normal* (ULN) angegeben. Aufgrund der variablen Zeitintervalle, in denen die PatientInnen die Ambulanzen der Medizinischen Kliniken aufsuchen, gilt ein Toleranzintervall von zwei Monaten 1 Jahr nach Therapiebeginn, bei der Berechnung des 5-Jahresansprechens galt ein Toleranzintervall von sechs Monaten und bei dem 10-Jahresansprechen acht Monaten.

### 2.3.3 Fehlende Daten

Aufgrund der Dokumentation in Papierform und den teils lange Zeit zurückreichenden Krankengeschichten variieren die verfügbaren Informationen zu den einzelnen PatientInnen. Dementsprechend konnten nicht alle PatientInnen hinsichtlich der unterschiedlichen Fragestellungen detailliert ausgewertet werden.

## 2 Methoden

### 2.4 Therapien

Die medikamentöse Therapie mit UDC wurde erfasst, wobei jede Dosiserhöhung oder Dosisreduktion erhoben wurde. Auch die Daten zur endoskopischen Therapie, das LTX-Datum und das Überleben nach LTX wurden systematisch registriert. Zudem wurde dokumentiert, ob nach der LTX ein Rezidiv aufgetreten ist und innerhalb welchen Zeitraumes. Auch das Vorhandensein einer Abstoßungsreaktion und einer ITBL wurden erfasst.

### 2.5 Statistische Methoden

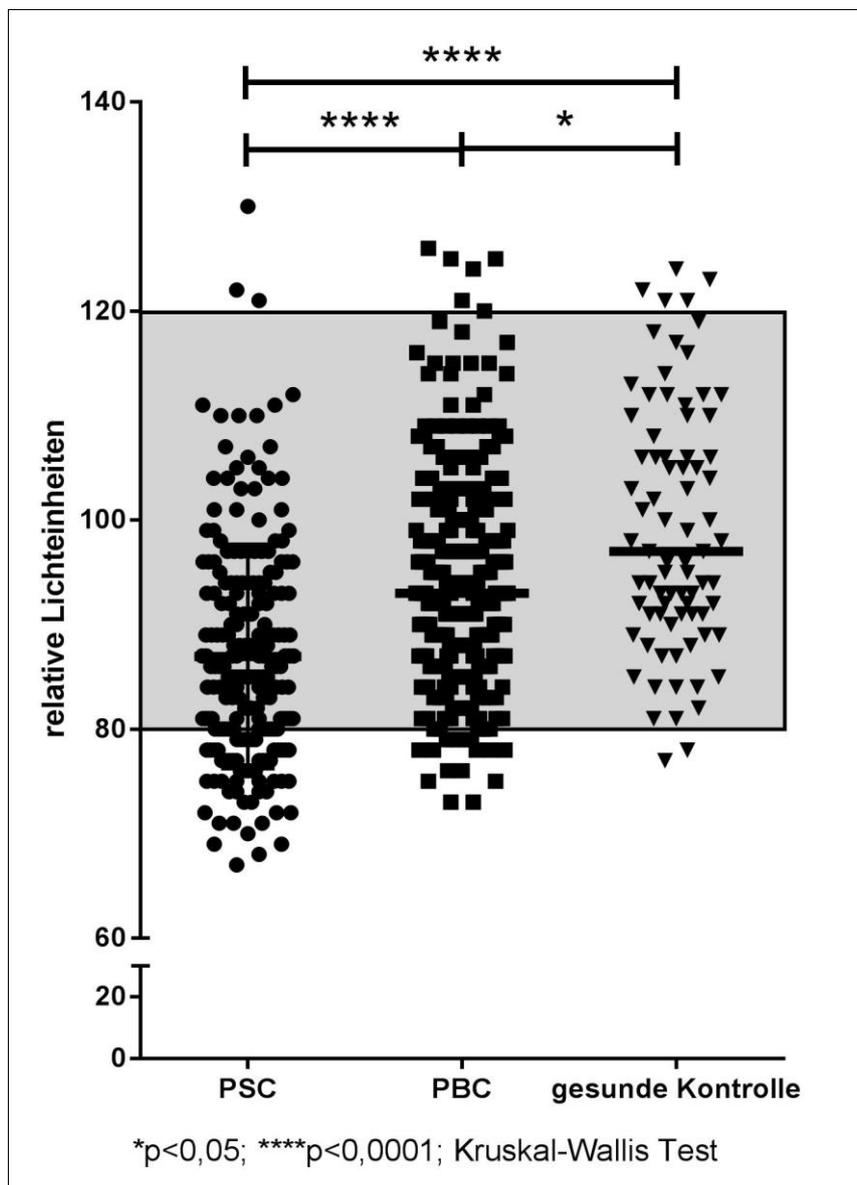
Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software IBM SPSS, Version 24. Dabei wurden deskriptive Statistik und explorative Verfahren genutzt. In der deskriptiven Statistik wurden Häufigkeiten in absoluter Zahl und Prozent angegeben. Bei metrischen Merkmalen wurden Median und Interquartilsabstand angegeben. Der *Mann-Whitney* Test wurde zum Vergleich zweier unabhängiger Stichproben aus einer nicht-normalverteilten Grundgesamtheit angewendet. Zusammenhänge zwischen zwei nicht-normalverteilte nominalen Variablen wurden mittels *Fisher-exact* Test auf statistische Unterschiede ausgewertet. Überlebenskurven wurden mit der Kaplan-Meier Methode erstellt und zum Vergleich der Überlebenszeiten der *Log Rank* Test vorgenommen. Zudem wurden univariate sowie multivariate Analysen sowie Cox Regression zur Bestimmung der *Hazard Ratio* durchgeführt. Zum Mittelwertvergleich wurde der T-Test genutzt. Das Signifikanzniveau wurde auf 0,05 (5%) bei allen Tests festgelegt.

### 3 Ergebnisse

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Prävalenz von mAChR3 Auto-Antikörpern (mAChR3 Auto-AK)

In der nachfolgenden Abbildung ist die Prävalenz von mAChR3 Auto-AK bei PSC PatientInnen im Vergleich zu einer erkrankten Kontrollkohorte von PBC-PatientInnen und gesunden Kontrollgruppe dargestellt (Abbildung 7).



### 3 Ergebnisse

**Abbildung 7: Prävalenz von mAChR3-Auto-AK bei PSC PatientInnen, PBC PatientInnen und einer gesunden Kontrollgruppe zum Vergleich.** PSC: Primär sklerosierende Cholangitis, PBC: Primär biliäre Cholangitis.

Bei einer Rezeptoraktivität von  $\leq 80\%$  nach Auto-AK-Inkubation wurden die mAChR3 Auto-AK als inhibitorisch definiert. In dieser Arbeit werden sie als mAChR<sup>-</sup> bezeichnet. Bei einer Rezeptoraktivität  $>80\%$  nach Auto-AK Inkubation handelte es sich um nicht-inhibitorische Auto-AK. Im weiteren Verlauf wurden die stimulierenden AK mit den nicht-stimulierenden AK als mAChR3<sup>-</sup> zusammengefasst und mit der Gruppe der inhibitorischen AK, das heißt mAChR3<sup>+</sup>, verglichen. Die PBC wurde bei der Untersuchung als erkrankte Kontroll-Kohorte genutzt, da die PBC wie die PSC zu den chronisch-entzündlichen Gallengangserkrankungen gezählt wird, jedoch andere Ursachen hat.

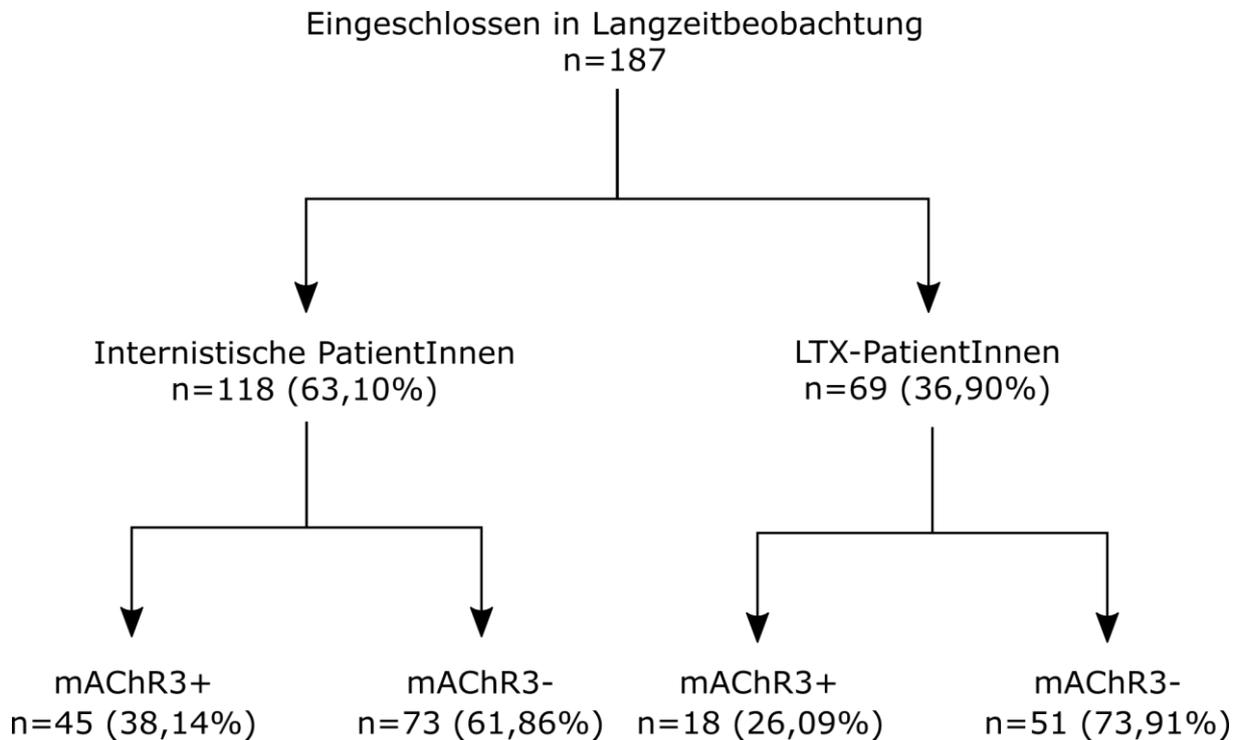
Wie in Abbildung 7 dargestellt, betrug die Prävalenz von mAChR3<sup>+</sup> betrug 33,66% im Vergleich zu der erkrankten Kontrollkohorte von PBC PatientInnen mit 11,2% und der gesunden Kontrollkohorte mit 2,5%. Es ist zu erkennen, dass es einen hochsignifikanten Unterschied in Bezug auf den Anteil von mAChR3<sup>+</sup> Auto-AK bei PSC PatientInnen sowohl im Vergleich zu den gesunden Kontrollen als auch im Vergleich zu den PBC-PatientInnen gab ( $p < 0,0001$ ). Dahingegen war der Anteil von mAChR3<sup>+</sup> Auto-AK bei PBC-PatientInnen niedriger im Vergleich zu PSC PatientInnen, wobei der Unterschied zu den gesunden Kontrollen signifikant war ( $p < 0,05$ ).

#### 3.2 Charakterisierung des Gesamtkollektivs

Die Charakterisierung der 187 PatientInnen, welche das Gesamtkollektiv bildeten, ist in der folgenden Abbildung dargestellt (Abbildung 8). Der Anteil an internistischen PatientInnen des Interdisziplinären Leberzentrums der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin (CVK) betrug 63,10% ( $n=118$ ) und der Anteil von transplantierten PatientInnen aus der Ambulanz für Lebertransplantation der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der Charité-Universitätsmedizin (CVK) betrug 36,90% ( $n=69$ ). Innerhalb der Gruppe der internistischen PatientInnen waren 38,14% PatientInnen mAChR3<sup>+</sup> ( $n=45$ ) und 61,86% PatientInnen

### 3 Ergebnisse

mAChR3- (n=73). Bei den transplantierten PatientInnen waren 26,09% mAChR3+ (n=18) und 73,91% mAChR3- (n=51).

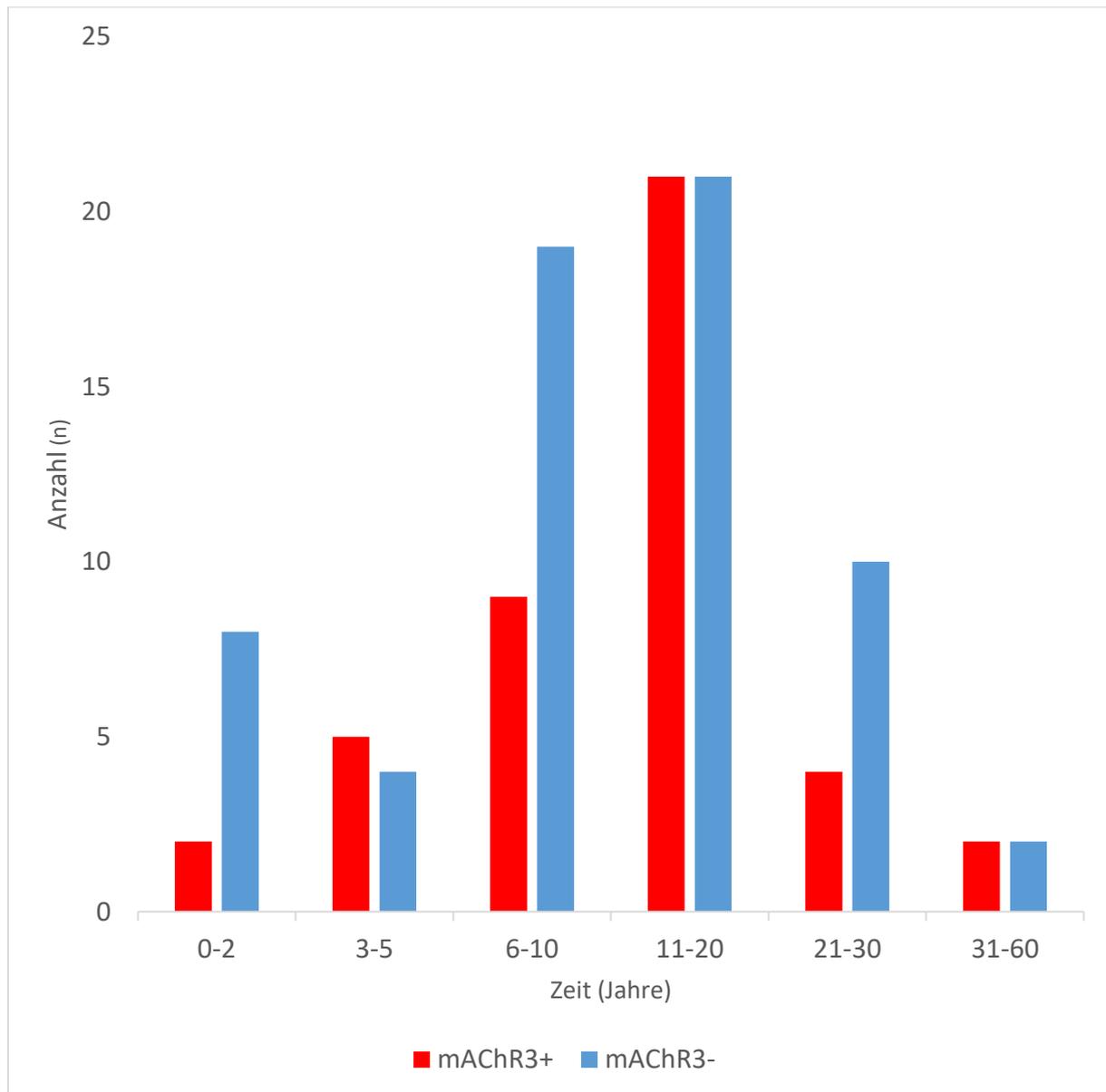


**Abbildung 8: Charakterisierung der PatientInnen, die in die retrospektive Studie eingeschlossen wurden.** Dargestellt ist die Anzahl internistischer PSC PatientInnen des Interdisziplinären Leberzentrums der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin (CVK) und transplantierte PSC PatientInnen aus der Ambulanz für Lebertransplantation der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der Charité - Universitätsmedizin (CVK), sowie die jeweilige Anzahl von mAChR3+ bzw. mAChR3- PSC PatientInnen. LTX: Lebertransplantation, mAChR3+: inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3, mAChR3-: nicht-inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3.

Insgesamt gab es somit innerhalb des untersuchten Gesamtkollektivs keine signifikanten Unterschiede zwischen den internistischen bzw. transplantierten PatientInnen sowie hinsichtlich des mAChR3 Auto-AK Status.

In der folgenden Abbildung ist die Beobachtungszeit der eingeschlossenen PSC PatientInnen in Jahren dargestellt (Abbildung 9).

### 3 Ergebnisse



**Abbildung 9: Beobachtungszeit der eingeschlossenen PSC PatientInnen.** Dargestellt sind Anzahl internistischer PSC PatientInnen des Interdisziplinären Leberzentrums der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin (CVK). mAChR3+: inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3, mAChR3-: nicht-inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3.

Wie aus Abbildung 9 hervor geht, gab es mehr Langzeitverläufe von mAChR3- PSC PatientInnen als von mAChR3+ PSC PatientInnen. Im Median betrug die Beobachtungszeit der

### 3 Ergebnisse

mAChR3+ PSC PatientInnen 12 Jahre und 5 Monate und diejenige der mAChR3- PSC PatientInnen 12 Jahre. Dieser Unterschied war statistisch nicht signifikant.

#### 3.2.1 Allgemeine Charakteristika zum Zeitpunkt der Diagnosestellung

Die allgemeinen Charakteristika der PSC PatientInnen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst (Tabelle 3).

**Tabelle 3: Allgemeine Charakteristika der PSC PatientInnen.** Es sind die allgemeinen Charakteristika der PSC PatientInnen des Interdisziplinären Leberzentrums der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin (CVK) in Abhängigkeit des mAChR3-Auto-AK-Status aufgeführt.

| Parameter                 | mAChR3+ PSC |       | mAChR3- PSC |       | p  |
|---------------------------|-------------|-------|-------------|-------|----|
|                           | n           | %     | n           | %     |    |
| Anteil (%)                | 45          | 38,1% | 73          | 61,9% | -  |
| Männlich (%)              | 33          | 73,3% | 42          | 57,5% | ns |
| Weiblich (%)              | 12          | 26,7% | 31          | 42,5% | ns |
| <i>Small-duct</i> PSC (%) | -           | -     | 1           | 1,37% | -  |

### 3 Ergebnisse

| Parameter  | mAChR3+ PSC |             | mAChR3- PSC |             | p  |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|----|
|  | n           | %           | n           | %           |    |
| <b>Alter bei Erstdiagnose<sup>°</sup> (Jahre)</b>  | 42          | 36,4 ± 12,7 | 65          | 34,0 ± 13,2 | ns |
| <b>Alter bei Therapiestart<sup>°</sup> (Jahre)</b> | 40          | 39,4 ± 11,2 | 63          | 36,8 ± 12,4 | ns |
| <b>Ursodesoxycholsäure* (UDC in mg/kg KG/Tag)</b>  | 37          | 12,1 (7,0)  | 56          | 11,5 (8,0)  | ns |

\* Median (IQR). ° MW±SD. ns: nicht signifikant. UDC: Ursodesoxycholsäure. mAChR3+: inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3, mAChR3-: nicht-inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3.

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung betrug der Anteil mAChR3+ PSC PatientInnen 38,1%, während der Anteil an mAChR3- PSC PatientInnen mit 61,9% deutlich höher ausfiel. Dabei waren die männlichen Patienten sowohl in der mAChR3+ Gruppe mit 73,3% als auch bei den mAChR3- PSC PatientInnen mit 57,5% häufiger vertreten. Eine *small-duct*-PSC konnte bei einem mAChR3- PSC Patienten nachgewiesen werden. Die mAChR3+ PSC PatientInnen waren im Median mit 36,4 ± 12,7 Jahren älter als die mAChR3- PSC PatientInnen mit einem Median von 34,0 ± 13,2 Jahren. Der Unterschied war statistisch nicht signifikant. Die mediane UDC-Dosis der mAChR3+ PSC PatientInnen lag mit 12,1 mg/kg KG /d (IQR: 7,0), über der medianen UDC-Dosis der mAChR3- PSC PatientInnen von 11,5 mg/kg KG/d (IQR: 8,0). Der Unterschied war statistisch nicht signifikant. In beiden Gruppen lag somit die tägliche UDC-Dosis etwas unterhalb der von der DGVS empfohlenen Tagesdosis, die im Bereich 13-15 mg/kg KG/d liegt.

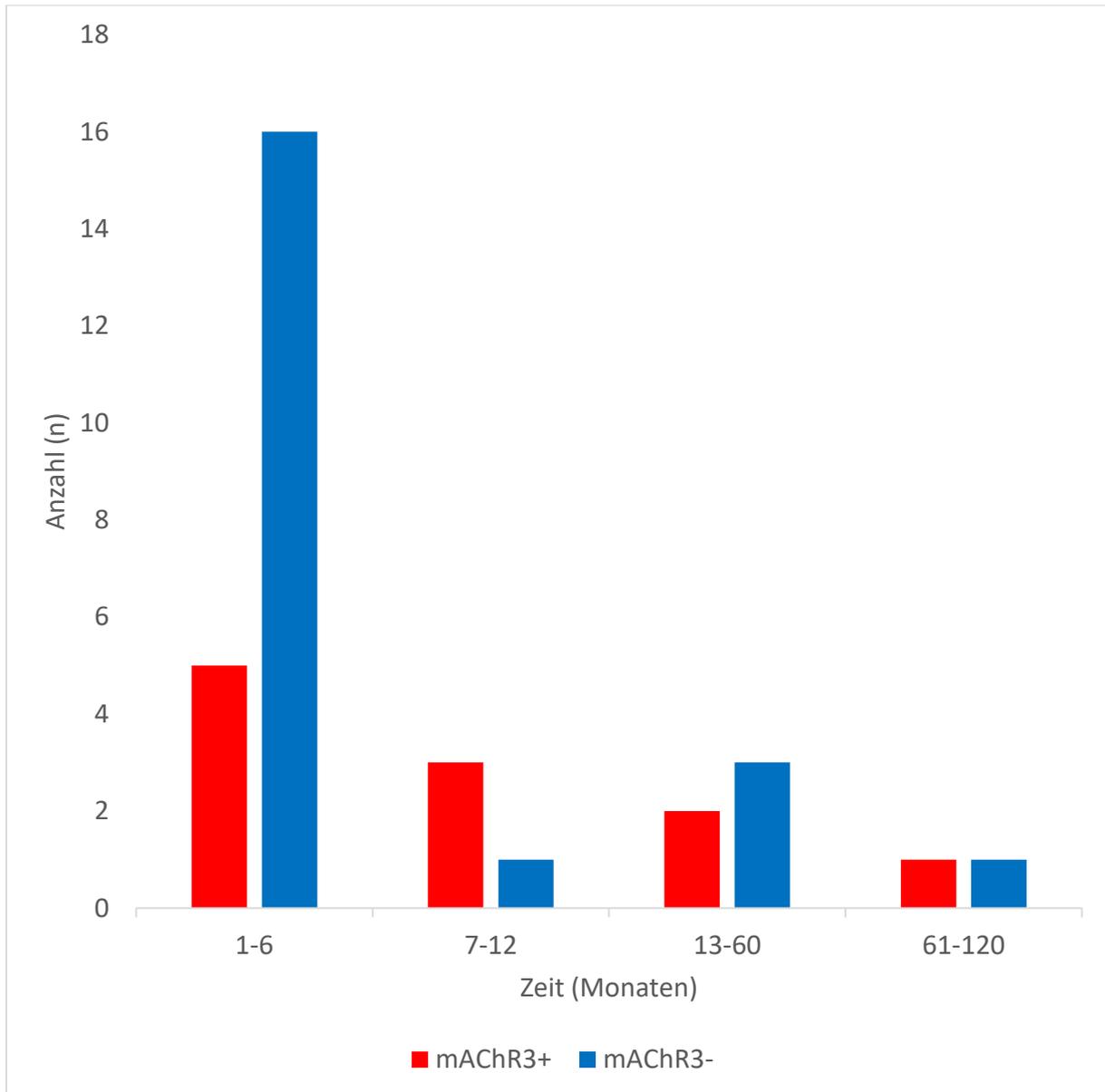
## 3 Ergebnisse

Zusammengefasst zeigten sich mehr betroffene Männer unter den mAChR3+ PSC PatientInnen und sie waren älter. Dabei gab es allerdings keine signifikanten Unterschiede in Abhängigkeit von dem mAChR3 Auto-AK-Status.

### **3.2.2 Zeit bis zur Diagnosestellung**

In der folgenden ist die Dauer bis zur Diagnosestellung dargestellt (Abbildung 10).

### 3 Ergebnisse



**Abbildung 10: Dauer in Monaten bis zur Diagnosestellung.** Dargestellt ist die Dauer in Monaten bei mAChR3+ sowie mAChR3- PSC PatientInnen bis zur Diagnosestellung der PSC. mAChR3+: inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3, mAChR3-: nicht-inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3.

Zusammengefasst wurde bei der Mehrzahl der mAChR3+ sowie mAChR3- PSC PatientInnen nach ein bis sechs Monaten eine PSC diagnostiziert. Innerhalb dieses Zeitraumes war der Anteil mAChR3- PSC PatientInnen annähernd doppelt so hoch im Vergleich zu den mAChR3+ PSC PatientInnen.

## 3 Ergebnisse

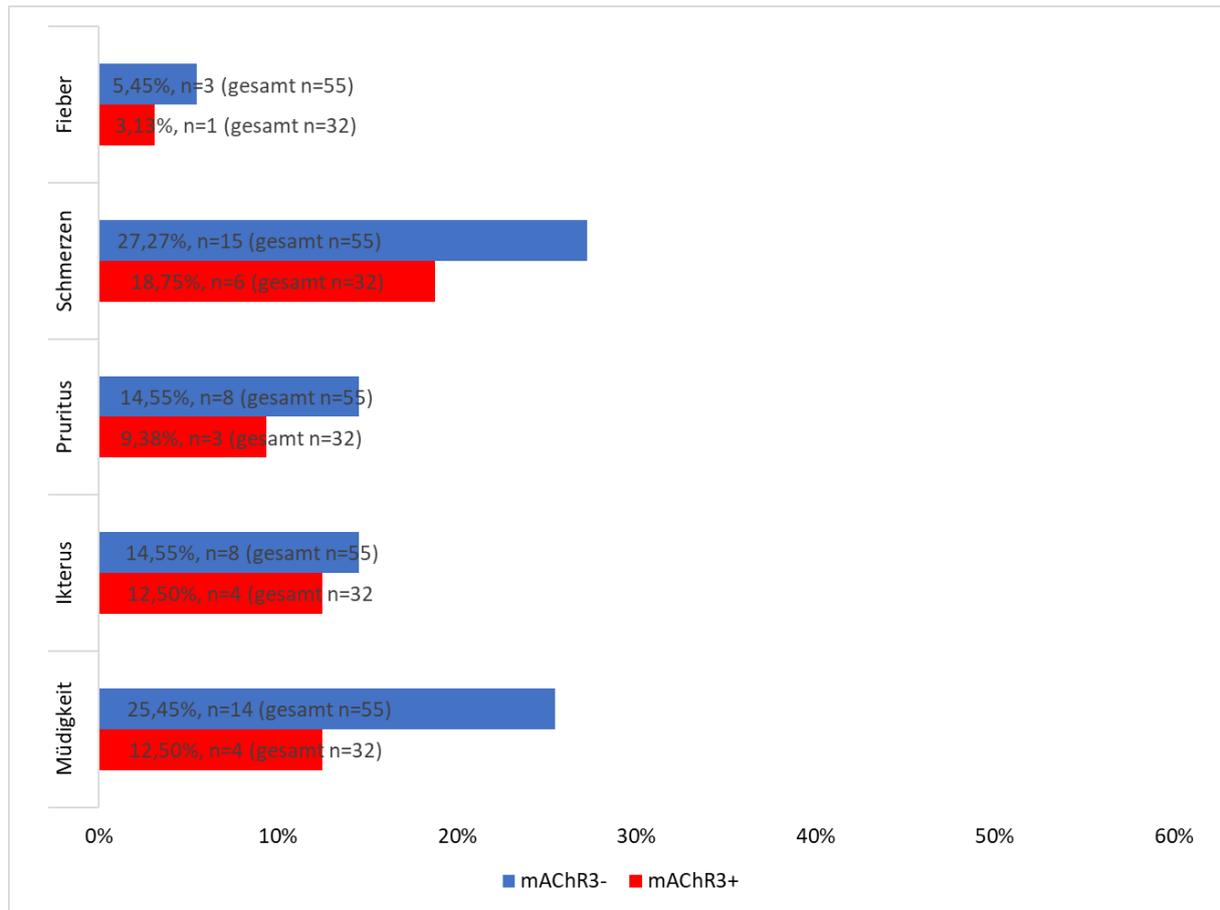
### **3.3 Klinische Präsentation**

Im folgenden Abschnitt ist die klinische Symptomatik der PSC PatientInnen des Interdisziplinären Leberzentrums der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin (CVK) dargestellt.

#### **3.3.1 Symptomatik der PSC PatientInnen zum Zeitpunkt der Erstvorstellung**

In der folgenden Abbildung ist die Symptomatik der PSC PatientInnen zum Zeitpunkt der Erstvorstellung dargestellt (Abbildung 11).

### 3 Ergebnisse



**Abbildung 11: Symptome zum Zeitpunkt der Erstdiagnose.** Dargestellt sind die Symptome der mACHR3+ sowie mACHR3- PSC PatientInnen zum Zeitpunkt der Erstdiagnose. mACHR3+: inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3, mACHR3-: nichts-inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3.

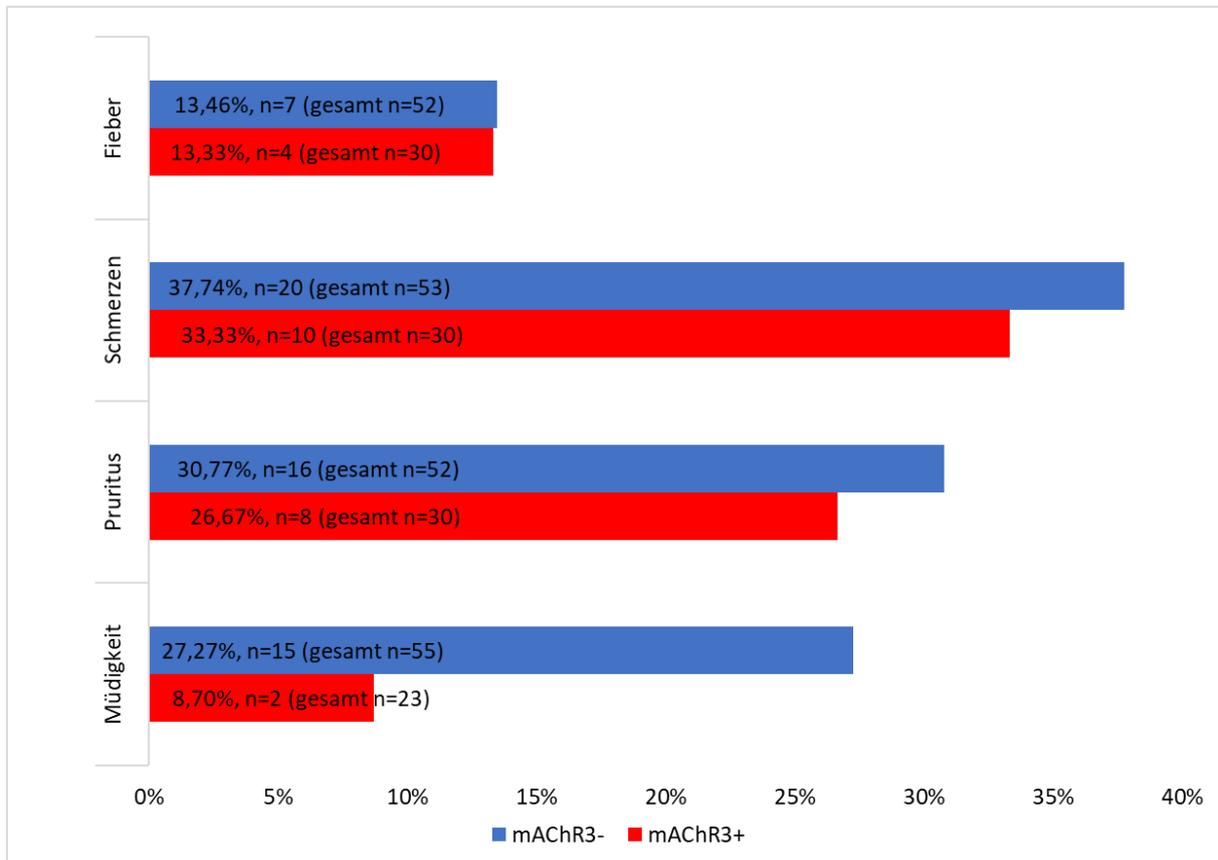
Aus der Abbildung geht hervor, dass mACHR3+ PSC PatientInnen deutlich häufiger asymptomatisch waren, während die mACHR3- PSC PatientInnen sämtliche Symptome, das heißt Fieber, Schmerzen, Pruritus, Ikterus und Müdigkeit häufiger zeigten. Insgesamt ist jedoch in beiden Gruppen die Mehrzahl der PSC PatientInnen asymptomatisch.

Abschließend lässt sich sagen, dass die mACHR3+ PSC PatientInnen bei Erstdiagnose häufiger asymptomatisch waren. Die Unterschiede zwischen mACHR3- sowie mACHR3+ PSC PatientInnen waren in Bezug auf die untersuchten klinischen Symptome statistisch nicht signifikant.

## 3 Ergebnisse

### 3.3.2 Klinischer Verlauf der PSC PatientInnen

In der folgenden Abbildung ist die klinische Symptomatik der PSC PatientInnen im Verlauf des gesamten Beobachtungszeitraumes dargestellt (Abbildung 12).



**Abbildung 12: Klinischer Verlauf der PSC PatientInnen.** Dargestellt ist der klinische Verlauf über den gesamten Beobachtungszeitraum der mAChR3+ sowie der mAChR3- PSC PatientInnen. mAChR3+: inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3, mAChR3-: nicht-inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3.

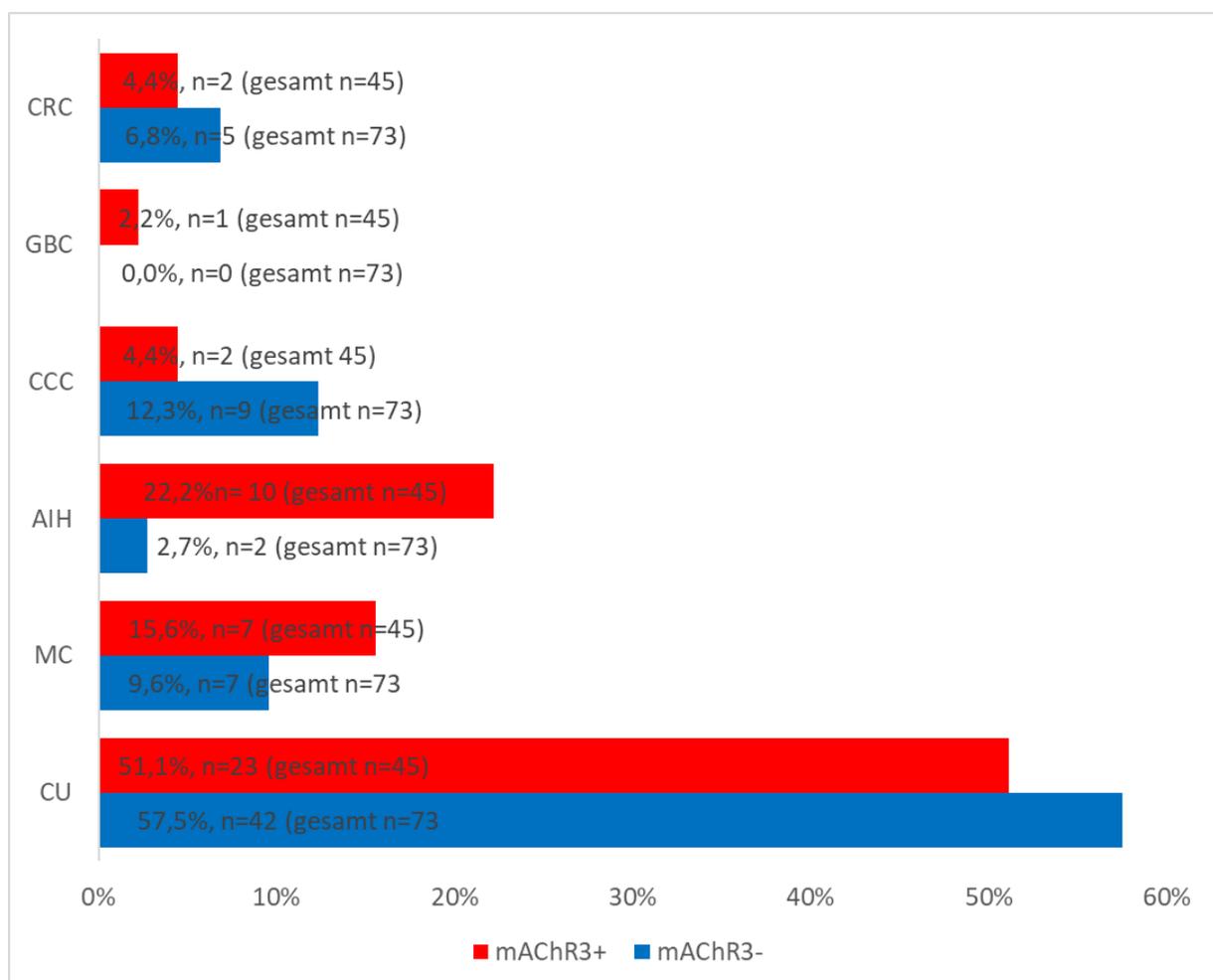
Die mAChR3+ PSC PatientInnen bleiben im Verlauf deutlich häufiger asymptomatisch, während die mAChR3- PSC PatientInnen im Vergleich häufiger über Schmerzen, Pruritus und Fieber berichteten. Insgesamt ist in beiden Gruppen die Mehrzahl aller PSC PatientInnen asymptomatisch.

### 3 Ergebnisse

Abschließend lässt sich sagen, dass die mAChR3+ PSC PatientInnen eher asymptomatisch waren. Die Unterschiede zwischen mAChR3- sowie mAChR3+ PSC PatientInnen waren in Bezug auf die untersuchten klinischen Symptome statistisch nicht signifikant.

#### 3.4 Komorbiditäten

Im Folgenden werden die Häufigkeiten der Komorbiditäten CU, MC, AIH, CCA, GBC, HCC und CRC in Abhängigkeit des mAChR3-Status dargestellt (Abbildung 13).



## 3 Ergebnisse

**Abbildung 13: Komorbiditäten der PSC PatientInnen des Interdisziplinären Leberzentrums der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin (CVK).** Dargestellt sind die Komorbiditäten der eingeschlossenen PatientInnen. CU: Colitis ulcerosa, MC: Morbus Crohn, AIH: Autoimmunhepatitis, CCC: Cholangiozelluläres Karzinom, GBC: Gallenblasenkarzinom, HCC: Hepatozelluläres Karzinom, CRC: Kolorektales Karzinom, mAChR3+: inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3, mAChR3-: nicht-inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3.

Innerhalb der CED trat die CU im Vergleich zum MC sowohl bei den mAChR3+ als auch bei den mAChR3- PSC PatientInnen häufiger auf. Von den untersuchten mAChR3- PatientInnen waren 57,5% an einer CU erkrankt, dieser Anteil fiel bei den mAChR3+ PSC PatientInnen mit 51,1% geringer aus. Bei den mAChR3+ PSC PatientInnen zeigte sich ein MC und ein *Overlap*-Syndrom mit einer AIH häufiger, wobei der Unterschied lediglich hinsichtlich der AIH signifikant war. Bei den mAChR3- PSC PatientInnen war das CCC häufiger beobachtet worden. Ein GBC wurde nur bei einem mAChR3+ Patienten nachgewiesen.

Zusammengefasst unterschieden sich die mAChR3+ und die mAChR3- PSC PatientInnen hinsichtlich des Auftretens der AIH.

### 3.5 Laborchemie

#### 3.5.1 Laborparameter zum Zeitpunkt der Diagnosestellung

Die Laborparameter der PSC PatientInnen des Interdisziplinären Leberzentrums der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin (CVK) sind in Abhängigkeit des mAChR3-AK Status in der folgenden Tabelle zusammengefasst (Tabelle 4).

### 3 Ergebnisse

**Tabelle 4: Laborparameter vor Therapiebeginn in Abhängigkeit des mAChR3-AK Status.**

| Parameter                      | mAChR3+          |    | mAChR3-            |    | p  |
|--------------------------------|------------------|----|--------------------|----|----|
|                                | Wert             | n  | Wert               | n  |    |
| <b>Gesamtbilirubin * (ULN)</b> | 0,7 (0,38-0,95)  | 13 | 0,63 (0,43-0,94)   | 26 | ns |
| <b>AP* (ULN)</b>               | 3,06 (1,73-6,09) | 26 | 2,78 (1,55-4,63)   | 46 | ns |
| <b>γGT * (ULN)</b>             | 4,93 (1,66-6,92) | 26 | 3,77 (1,95-8,19)   | 46 | ns |
| <b>ASAT* (ULN)</b>             | 1,06 (0,65-1,40) | 28 | 1,06 (0,77-2,08)   | 45 | ns |
| <b>ALAT* (ULN)</b>             | 1,93 (1,31-3,2)  | 27 | 2,15 (1,1-3,63)    | 46 | ns |
| <b>Albumin* (g/dl)</b>         | 4,3 (3,64,6)     | 15 | 4,4 (4-4,6)        | 37 | ns |
| <b>Quick* (%)</b>              | 98,8 (85-111)    | 25 | 101 (88,63-108,92) | 45 | ns |
| <b>Thrombozyten* (/nl)</b>     | 278 (233-320,83) | 27 | 241 (194,6-309,5)  | 45 | ns |

### 3 Ergebnisse

| Parameter       | mAChR3+                |    | mAChR3-            |    | p  |
|-----------------|------------------------|----|--------------------|----|----|
|                 | Wert                   | n  | Wert               | n  |    |
| AFP* (ng/ml)    | 2,5 (1-4,5)            | 6  | 3 (1-4,4)          | 15 | ns |
| CA 19-9* (kU/l) | 9 (2-153)              | 5  | 18 (8,85-63,88)    | 14 | ns |
| IgG* (g/l)      | 1365,5 (1041,5-1952,5) | 10 | 1550,5 (1144-1694) | 18 | ns |
| CRP* (mg/dl)    | 0,77 (0,29-2,53)       | 17 | 0,7 (0,2-4,04)     | 33 | ns |

\*Median (IQR). IQR: Interquartil Range, ULN: upper limit of normal. AP: Alkalische Phosphatase.  $\gamma$ GT: gamma Glutamyltransferase, ASAT: Aspartat-Aminotransferase, ALAT: Alanin-Aminotransferase, AFP: alpha-1-Fetoprotein, CA19-9: Carbohydrate antigen 19-9, IgG: Immunoglobulin G, CRP: C-reaktives Protein, mAChR3+: inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3, mAChR3-: nicht-inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3.

Unabhängig vom mAChR3-Auto-AK Status zeigten sich vor Therapiebeginn erhöhte Werte für Gesamtbilirubin, AP,  $\gamma$ GT und Transaminasen. Die Unterschiede zwischen Thrombozyten, AFP, CA 19-9, IgG sowie CRP zwischen den mAChR3- PSC PatientInnen sowie den mAChR3+ PSC PatientInnen nicht signifikant.

Zusammengefasst konnten keine signifikanten Unterschiede der untersuchten Laborparameter in Abhängigkeit des mAChR3-Auto-AK Status vor Einleitung einer Therapie festgestellt werden.

### 3 Ergebnisse

#### 3.5.2 Laborchemisches Therapieansprechen

In der folgenden Tabelle sind die laborchemischen Parameter der PSC PatientInnen des Interdisziplinären Leberzentrums der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin (CVK) auf UDC nach einem Jahr Therapie mit UDC dargestellt (Tabelle 5).

**Tabelle 5: 1-Jahres Ansprech-Raten nach UDC Therapie.**

| Parameter          | mAChR3+     |    | mAChR3-     |    | p  |
|--------------------|-------------|----|-------------|----|----|
|                    | Wert        | n  | Wert        | n  |    |
| AP* (ULN)          | 1,42 (2,03) | 16 | 1,52 (2,46) | 29 | ns |
| AST* (ULN)         | 0,62 (1,00) | 15 | 0,94 (0,90) | 29 | ns |
| ALT* (ULN)         | 0,73 (1,46) | 15 | 1,10 (2,57) | 29 | ns |
| Bilirubin* (ULN)   | 0,58 (0,67) | 15 | 0,83 (0,67) | 25 | ns |
| $\gamma$ GT* (ULN) | 1,23 (1,83) | 15 | 1,73 (3,01) | 28 | ns |

### 3 Ergebnisse

\*Median (IQR). IQR: Interquartil Range, ULN: upper limit of normal. AP: Alkalische Phosphatase.  $\gamma$ GT: gamma Glutamyltransferase, ASAT: Aspartat-Aminotransferase, ALAT: Alanin-Aminotransferase, mAChR3+: inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3, mAChR3-: nicht-inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3.

Nach einem Jahr Therapie zeigten sich erhöhte Werte für AP, Transaminasen, Bilirubin und  $\gamma$ GT in beiden vorliegenden Gruppen. Alle Werte waren in der Gruppe der mAChR3+ PSC PatientInnen leicht höher als in der mAChR3- Gruppe, wobei das Ergebnis statistisch insignifikant war. Es ist zu erkennen, dass die Unterschiede innerhalb der jeweiligen Laborparameter in Abhängigkeit vom Auto-AK-Status nicht signifikant waren.

In der Zusammenschau der Cholestaseparameter über den Verlauf lässt sich feststellen, dass im Schnitt alle PSC PatientInnen, unabhängig vom mAChR3 Auto-AK-Status, pathologische Werte hatten.

In der folgenden Tabelle ist der Parameter AP nach fünf Jahren und nach zehn Jahren bei mAChR3+ PSC PatientInnen und mAChR3- PSC PatientInnen dargestellt (Tabelle 6).

**Tabelle 6: 5-Jahres Ansprechraten auf UDC anhand der AP.**

| Parameter                       | mAChR3+     |    | mAChR3-     |    | p    |
|---------------------------------|-------------|----|-------------|----|------|
|                                 | Wert        | n  | Wert        | n  |      |
| <b>AP* (ULN) nach 5 Jahren</b>  | 1,65 (1,67) | 17 | 3,10 (4,21) | 28 | 0,03 |
| <b>AP* (ULN) nach 10 Jahren</b> | 1,05 (1,01) | 28 | 0,86 (2,09) | 35 | ns   |

### 3 Ergebnisse

\*Median (IQR). IQR: Interquartil Range. mAChR3: muskarinerges Acetylcholin-Rezeptor vom Typ 3, PSC: Primäre sklerosierende Cholangitis, AP: Alkalische Phosphatase, ULN: Upper limit of normal, mAChR3+: inhibierender Antikörper gegen den muskarinerges Acetylcholinrezeptor vom Typ 3, mAChR3-: nicht-inhibierender Antikörper gegen den muskarinerges Acetylcholinrezeptor vom Typ 3.

Es zeigte sich nach fünf Jahren eine signifikant höhere AP bei mAChR3- PSC PatientInnen im Vergleich zu mAChR3+ PSC PatientInnen. Nach zehn Jahren war die AP bei den mAChR3+ PSC PatientInnen vergleichsweise höher, wobei der Unterschied statistisch insignifikant war

Zusammenfassend lässt sich konstatieren, dass die AP nach fünf Jahren bei den mAChR3- PSC PatientInnen doppelt so hoch war wie bei den mAChR3+ PSC PatientInnen, nach 10 Jahren hingegen waren die Werte in beiden Gruppen wieder ähnlich hoch.

### 3.6 Untersuchungsbefunde im Verlauf in Abhängigkeit des mAChR3-Status

#### 3.6.1 ERC-Befunde in Anhängigkeit des mAChR3-Status im Gesamtverlauf

In der folgenden Tabelle ist die Lokalisation der PSC-Manifestation, das heißt Stenosen, in Abhängigkeit vom mAChR3-Auto-AK-Status dargestellt (Tabelle 7).

**Tabelle 7: Lokalisation der Manifestation in Abhängigkeit vom mAChR3-Status.**

| ERC-Befund                    | mAChR3+ |   | mAChR3- |    | p  |
|-------------------------------|---------|---|---------|----|----|
|                               | Prozent | n | Prozent | n  |    |
| Intrahepatische Manifestation | 14,7%   | 5 | 25%     | 14 | ns |
| Extrahepatische Manifestation | 23,5%   | 8 | 19,6%   | 11 | ns |

### 3 Ergebnisse

| ERC-Befund                                      | mAChR3+ |    | mAChR3- |    | p  |
|---|---------|----|---------|----|----|
|   | Prozent | n  | Prozent | n  |    |
| <b>Intra- und extrahepatische Manifestation</b> | 61,8%   | 21 | 51,8%   | 29 | ns |

ERC: Endoskopisch retrograde Cholangiographie, mAChR3+: inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3, mAChR3-: nicht-inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3, PSC: Primär sklerosierende Cholangitis.

Die intrahepatische Manifestation war bei den mAChR3- PSC PatientInnen häufiger, während die extrahepatische Manifestation bei den mAChR3+ PSC PatientInnen häufiger war. Auch die Kombination aus intra- und extrahepatischer Manifestation war bei mAChR3+ PSC PatientInnen häufiger, wobei alle genannten Unterschiede insignifikant sind.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in einem statistisch nicht signifikanten Trend sowohl extrahepatische als auch die Kombination aus intra- und extrahepatischer Manifestation bei mAChR3+ PSC PatientInnen häufiger waren.

#### 3.6.2 Zytologiebefunde in Abhängigkeit des mAChR3-Auto-AK-Status

Die folgende Tabelle stellt die Zytologiebefunde aus ERC/ ERCP Befunden der PSC PatientInnen des Interdisziplinären Leberzentrums der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin (CVK) über den gesamten Verlauf der Studie dar (Tabelle 8).

### 3 Ergebnisse

**Tabelle 8: Zytologiebefunde in Abhängigkeit des mAChR3-Status.**

| <b>Bürstenzytologie ERC/ ERCP</b> | <b>mAChR3+</b> |          | <b>mAChR3-</b> |          | <b>p</b> |
|-----------------------------------|----------------|----------|----------------|----------|----------|
|                                   | <b>Prozent</b> | <b>n</b> | <b>Prozent</b> | <b>n</b> |          |
| <b>Keine Dysplasien</b>           | 19,2%          | 5        | 29,5%          | 13       | ns       |
| <b>Leichte Dysplasien</b>         | 3,8%           | 1        | 6,8%           | 3        | ns       |
| <b>Mittelschwere Dysplasien</b>   | 19,2%          | 5        | 15,9%          | 7        | ns       |
| <b>Schwere Dysplasien</b>         | 23,1%          | 6        | 27,3%          | 12       | ns       |
| <b>Karzinom</b>                   | -              | -        | 9,1%           | 4        | ns       |
| <b>Sonstige</b>                   | 34,5%          | 9        | 11,3%          | 5        | ns       |

ERC: Endoskopisch retrograde Cholangiographie, mAChR3+: inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3, mAChR3-: nicht-inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3.

Wie aus Tabelle 8 ersichtlich, fand sich bei mehr mAChR3- PSC PatientInnen im gesamten Verlauf der Erkrankung keine Dysplasien in der Bürstenzytologie bei ERC/ ERCP. Bei den mAChR3+ PSC PatientInnen fanden sich dahingegen mehr mittelschwere Dysplasien als bei den mAChR3- PSC PatientInnen. Schwere Dysplasien und Karzinome in der Gruppe der mAChR3- PatientInnen vermehrt auf.

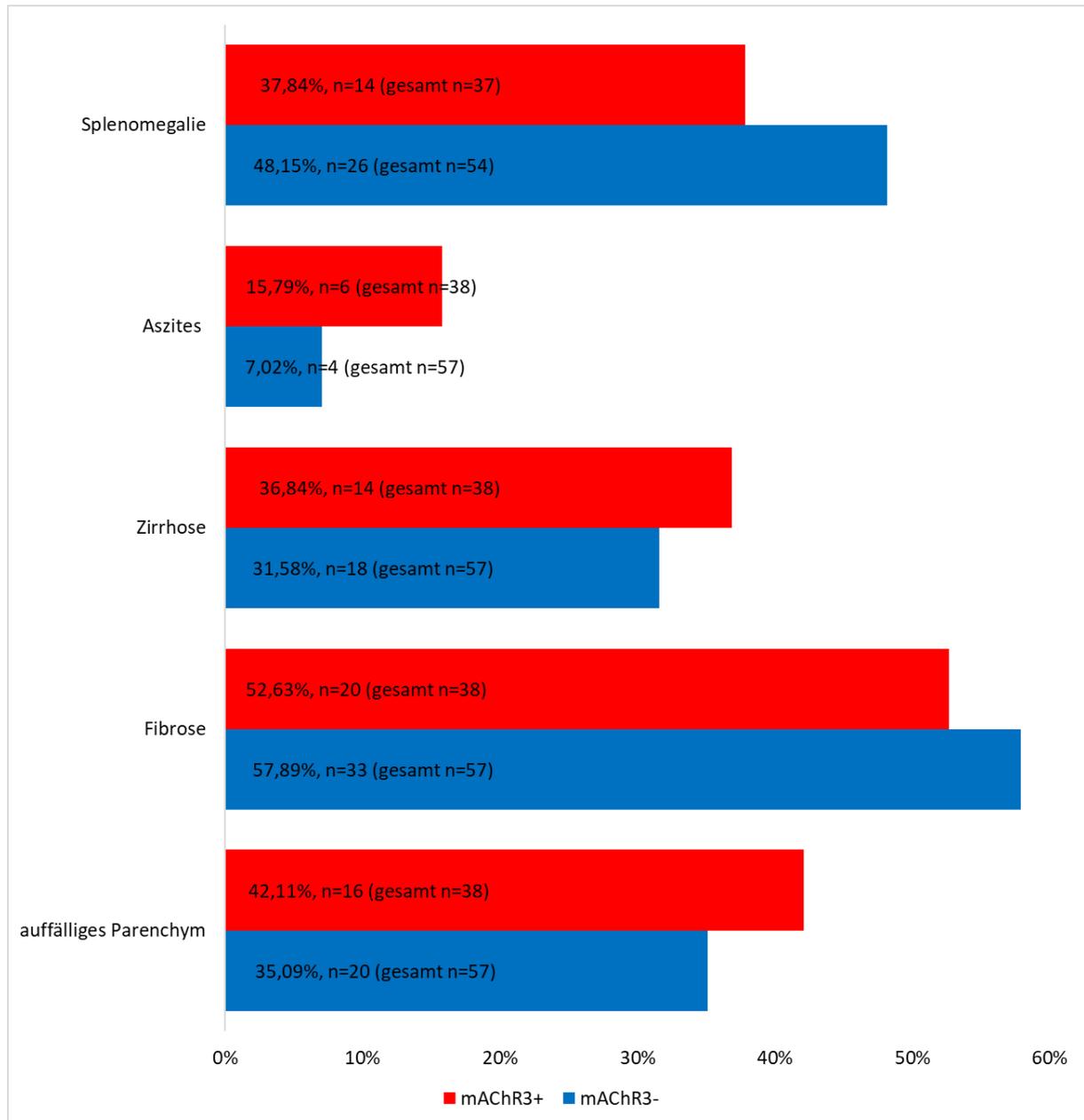
## 3 Ergebnisse

In der Zusammenschau der Befunde zeigte sich, dass in der Gruppe der mAChR3- PatientInnen häufiger keine Dysplasien vorkommen, wobei sich im Verlauf häufiger Karzinome fanden

### **3.6.3 Komplikationen**

In der folgenden Abbildung finden sich die Häufigkeiten der Komplikationen der PSC PatientInnen des Interdisziplinären Leberzentrums der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin (CVK) zu Therapiebeginn in Abhängigkeit des mAChR3-Auto-AK-Status (Abbildung 14).

### 3 Ergebnisse



## 3 Ergebnisse

**Abbildung 14: Komplikationen der PSC im Verlauf in Abhängigkeit des mAChR3-Status.** mAChR3+: inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3, mAChR3-: nicht-inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3.

Wie aus der Abbildung 14 ersichtlich, hatten mAChR3+ PSC PatientInnen häufiger Aszites, ein auffälliges Parenchym und eine Zirrhose in der Sonographie, mAChR3- PSC PatientInnen daneben zeigten häufiger eine Splenomegalie.

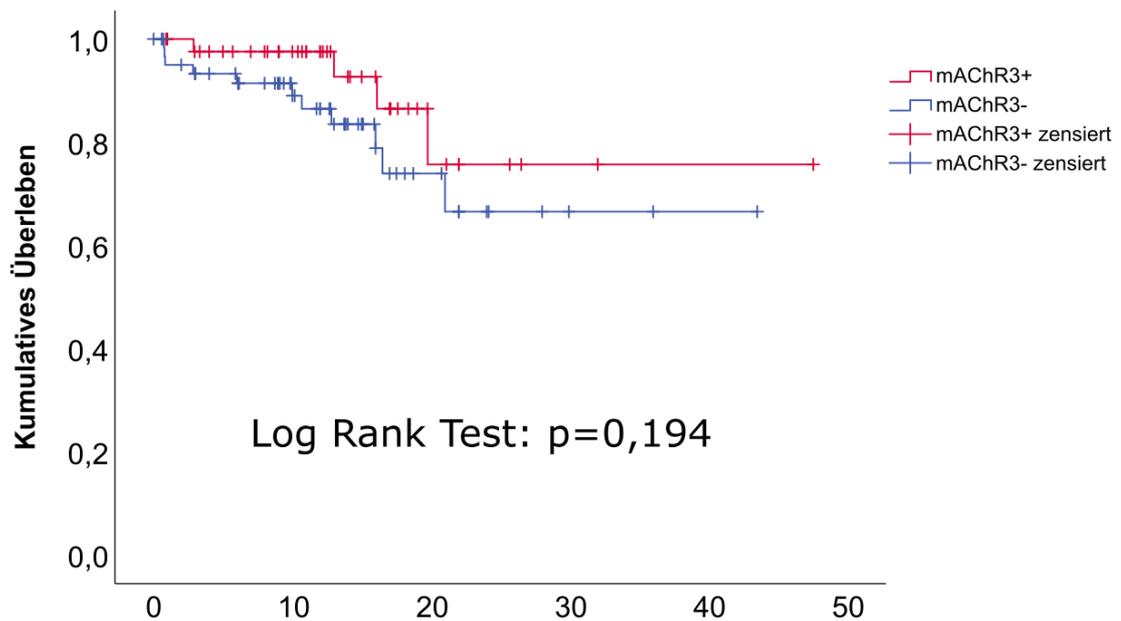
Insgesamt lässt sich feststellen, dass mAChR3+ PSC PatientInnen einen Trend zu schwerwiegenderen Komplikationen hatten.

### 3.7 Mortalität und Langzeitüberleben

#### 3.7.1 Langzeitüberleben

Die folgende Abbildung stellt das Langzeitüberleben der PSC PatientInnen des Interdisziplinären Leberzentrums der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin (CVK) in Abhängigkeit ihres Auto-AK-Status dar. Dabei zeigt der blaue Graph das kumulative Überleben der mAChR3- PSC PatientInnen, während der rote Graph das Überleben der mAChR3+ PSC PatientInnen zeigt (Abbildung 15).

### 3 Ergebnisse



|         |    |    |    |   |
|---------|----|----|----|---|
| mAChR3+ | 42 | 29 | 7  | 1 |
| mAChR3- | 62 | 36 | 10 | 2 |

**Abbildung 15: Vergleich der Überlebenszeiten bei PSC PatientInnen.** Dargestellt ist das kumulative Überleben der PSC PatientInnen des Interdisziplinären Leberzentrums der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin (CVK) mit mAChR3+ und mAChR3- PSC PatientInnen. mAChR3+: inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3, mAChR3-: nicht-inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3.

Das kumulative Überleben wurde mittels Kaplan-Meier-Analyse berechnet. LTX und Tod waren die Endpunkte. Die Beobachtungsdauer war das Zeitintervall zwischen der Diagnose der PSC und den Endpunkten. Die transplantfreie Überlebenszeit betrug für die mAChR3+ PSC PatientInnen (n=43) im Median 12 Jahre und 5 Monate sowie für die mAChR3- PSC PatientInnen (n=67) im Median 12 Jahre und 3 Monate.

Zusammengefasst war der Unterschied der medianen transplantfreie Überlebenszeit in Abhängigkeit des Auto-AK-Status statistisch nicht signifikant.

### 3 Ergebnisse

**Tabelle 9: Medianes Überleben der PSC PatientInnen des Interdisziplinären Leberzentrums nach 1, 5, 10 und 15 Jahren.**

| Überlebensraten | mAChR3+ |    | mAChR3- |    |
|-----------------|---------|----|---------|----|
|                 | Prozent | n  | Prozent | n  |
| <b>1 Jahr</b>   | 95,3%   | 41 | 91%     | 61 |
| <b>5 Jahre</b>  | 88,4%   | 38 | 91%     | 61 |
| <b>10 Jahre</b> | 86%     | 37 | 77,6%   | 52 |
| <b>15 Jahre</b> | 74,4%   | 32 | 79,1%   | 53 |

mAChR3+: inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3, mAChR3-: nicht-inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3.

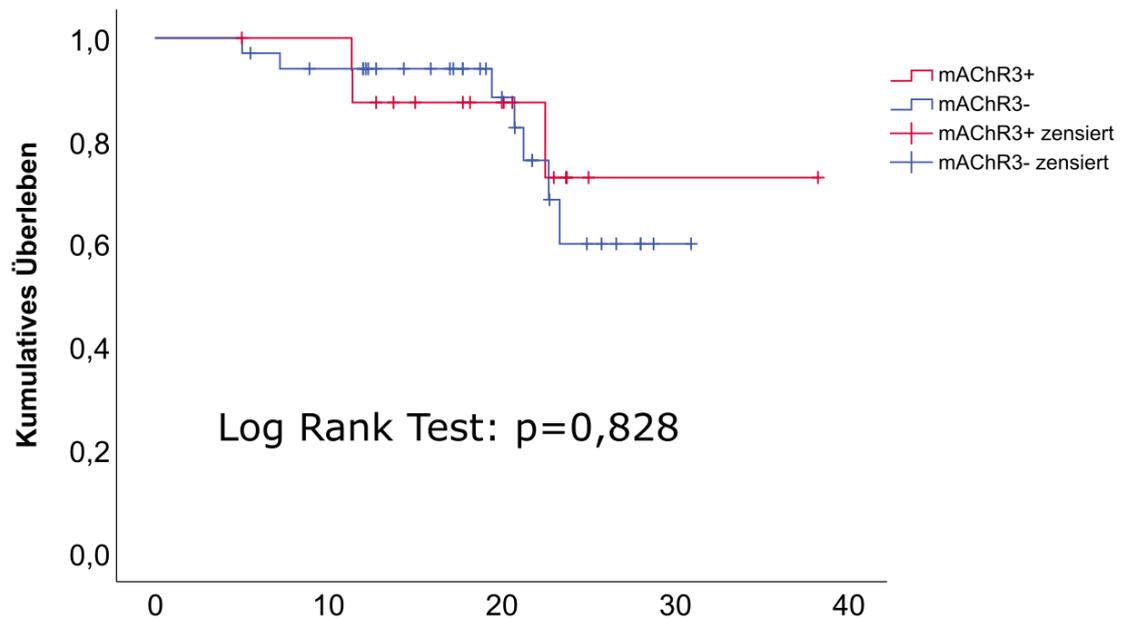
In die Analyse der medianen transplantationsfreien Überlebenszeit zu den Zeitpunkten 1, 5, 10 sowie 15 Jahren sind die Daten von insgesamt 100% der in der vorliegenden Studie eingeschlossenen PSC PatientInnen analysiert worden (n=63). In der Tabelle 9 ist das Überleben nach 1, 5, 10 und 15 Jahren der mAChR3+ sowie mAChR3- PatientInnen dargestellt.

Zusammenfassend unterschied sich das Überleben zu den festgelegten Zeitpunkten in Bezug auf den mAChR3 Auto-AK-Status nicht signifikant voneinander.

### 3 Ergebnisse

#### 3.7.2 Vergleich der Überlebenszeiten der transplantierten PatientInnen

Die folgende Abbildung stellt das Langzeitüberleben der PSC PatientInnen aus der Ambulanz für Lebertransplantation der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der Charité- Universitätsmedizin Berlin (CVK) in Abhängigkeit ihres mACHR3-Auto-AK-Status dar (Abbildung 16).



|         |    |    |    |   |
|---------|----|----|----|---|
| mACHR3+ | 16 | 15 | 8  | 1 |
| mACHR3- | 46 | 39 | 15 | 1 |

**Abbildung 16: Vergleich der Überlebenszeiten der LTX-PatientInnen.** Dargestellt ist das kumulative Überleben der PSC PatientInnen aus der Ambulanz für Lebertransplantation der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der Charité-Universitätsmedizin Berlin (CVK) bei mACHR3+ und mACHR3- PSC PatientInnen. mACHR3+: inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3, mACHR3-: nicht-inhibierender Antikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3.

Zusammenfassend unterschied sich die mediane Überlebenszeit in Bezug auf den mACHR3 Auto-AK-Status nicht signifikant (Abbildung 16).

### 3 Ergebnisse

In der Tabelle 10 ist das Überleben nach 1, 5, 10 und 15 Jahren der mAChR3+ sowie mAChR3- PatientInnen dargestellt.

**Tabelle 10: Medianes Überleben der PSC PatientInnen aus der Ambulanz für Lebertransplantation nach 1, 5, 10 und 15 Jahren nach LTX.**

| Überlebensraten | mAChR3+ |    | mAChR3- |    |
|-----------------|---------|----|---------|----|
|                 | Prozent | n  | Prozent | n  |
| <b>1 Jahr</b>   | 94,1%   | 16 | 95,7%   | 44 |
| <b>5 Jahre</b>  | 94,1%   | 16 | 89,2%   | 41 |
| <b>10 Jahre</b> | 88,2%   | 15 | 84,9%   | 39 |
| <b>15 Jahre</b> | 82,3%   | 14 | 78,4%   | 36 |

Das Überleben nach 1, 5, 10 sowie 15 Jahren nach erfolgter LTX wurde von insgesamt 91,3% der in der vorliegenden Studie eingeschlossenen LTX-PatientInnen analysiert (n=63).

Zusammenfassend unterschied sich das Überleben zu den festgelegten Zeitpunkten in Bezug auf den mAChR3 Auto-AK-Status nicht signifikant voneinander.

## 3 Ergebnisse

### 3.8 Lebertransplantation

#### 3.8.1 Prädiktive Faktoren für eine Lebertransplantation

Von den insgesamt 187 PSC PatientInnen aus den Ambulanzen der Charité-Universitätsmedizin Berlin, CVK wurden 69 PatientInnen lebertransplantiert. Darunter gab es mehr mAChR3- PSC PatientInnen. Es wurden prädiktive Faktoren für eine LTX untersucht. In der folgenden Tabelle sind prädiktive Faktoren aufgeführt (Tabelle 11).

**Tabelle 11: Prädiktive Faktoren für eine Lebertransplantation bei PSC PatientInnen.**

| <b>Univariate Analyse</b>             |                              |          |
|---------------------------------------|------------------------------|----------|
| <b>Baseline-Laborwerte</b>            | <b>Hazard ratio (95% CI)</b> | <b>p</b> |
| <b>Bilirubin (mg/dl)</b>              | 1,006 (0,967-1,047)          | 0,754    |
| <b>Bilirubin xULN</b>                 | 1,006 (0,969-1,045)          | 0,744    |
| <b>AP</b>                             | 1,004 (0,999-1,010)          | 0,98     |
| <b>Alkalische Phosphatase (xULN*)</b> | 0,627 (0,323-1,217)          | 0,168    |
| <b>γGT</b>                            | 0,997 (0,993-1,000)          | 0,079    |

### 3 Ergebnisse

| <b>Univariate Analyse</b>  |                              |          |
|----------------------------|------------------------------|----------|
| <b>Baseline-Laborwerte</b> | <b>Hazard ratio (95% CI)</b> | <b>p</b> |
| $\gamma$ GT xULN           | 1,067 (0,877-1,299)          | 0,517    |
| AST                        | 1,002 (0,976-1,029)          | 0,860    |
| AST xULN                   | 0,846 (0,237-3,018)          | 0,797    |
| ALT                        | 1,008 (0,987-1,029)          | 0,483    |
| ALT xULN                   | 0,845 (0,361-1,978)          | 0,697    |
| mAChR3+ Auto-AK            | 1,584 (1,245-2,016)          | -        |

xULN: Upper Limit of normal, AP: Alkalische Phosphatase,  $\gamma$ GT: Gamma-Glutamyltransferase, ASAT: Aspartat-Aminotransferase, ALAT: Alanin-Aminotransferase, mAChR3+ Auto-AK: inhibierende Autoantikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3.

Insgesamt wurden 69 PSC PatientInnen transplantiert und nachfolgend über die Ambulanz für Lebertransplantation der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der Charité- Universitätsmedizin Berlin (CVK) betreut.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es in dieser retrospektiven Studie keine prädiktiven Laborparameter für eine LTX gab.

### 3 Ergebnisse

#### 3.8.2 Rekurrenz der PSC und ITBL nach Lebertransplantation in Abhängigkeit des mAChR3-Status

In der folgenden Tabelle ist der Anteil eines PSC Rezidivs bzw. das Auftreten einer ITBL nach Lebertransplantation in Abhängigkeit vom Auto-AK Status gezeigt (Tabelle 12).

**Tabelle 12: Auftreten eines Rezidivs oder einer ITBL nach Lebertransplantation in Abhängigkeit des mAChR3-Auto-AK-Status.**

| Ereignis | mAChR3+ |   | mAChR3- |   | p  |
|----------|---------|---|---------|---|----|
|          | Prozent | n | Prozent | n |    |
| Rezidiv  | -       | 0 | 15,7%   | 8 | -  |
| ITBL     | 12,5%   | 2 | 17,7%   | 9 | ns |

ITBL: ischemic-type biliary lesions. ns: nicht signifikant. mAChR3+: inhibierender Autoantikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3, mAChR3-: nicht-inhibierender Autoantikörper gegen den muskarinergen Acetylcholinrezeptor vom Typ 3.

Von den lebertransplantierten PSC PatientInnen (n=69) waren 73,9% mAChR3- sowie 26,1% mAChR3+. Von den mAChR3- PatientInnen (n=51) hatten 15,7% (n=8) ein histologisch gesichertes Rezidiv. Bei den mAChR3+ PSC PatientInnen (n=18) konnte kein Rezidiv nachgewiesen werden. Bei den mAChR3- PSC PatientInnen (n=51) konnte bei 17,7% (n=9) eine ITBL nachgewiesen werden. Bei den mAChR3+ PatientInnen (n=18) konnte bei 12,5% (n=2) eine ITBL histologisch gesichert werden. Somit hatten 11,59% der PatientInnen nach zehn Jahren ein Rezidiv und 15,94% eine ITBL.

### 3 Ergebnisse

Zusammenfassend waren die Unterschiede zwischen mAChR3+ sowie mAChR3- PSC PatientInnen in Bezug auf das Auftreten eines PSC-Rezidivs bzw. einer ITBL nach Lebertransplantation statistisch nicht signifikant.

## 4 Diskussion

### 4 Diskussion

Die PSC ist eine folgenschwere Gallengangserkrankung, die momentan nicht kausal therapierbar ist [17]. In vorangegangenen Studien wurde die Assoziation von mAChR3 Auto-AK mit chronisch entzündlichen Lebererkrankungen wie der PSC und der PBC nachgewiesen [67]. Darüber hinaus wurden mAChR3 Auto-AK auch bei anderen Autoimmunerkrankungen, wie zum Beispiel dem Sjögren Syndrom nachgewiesen, welche mit der PBC assoziiert sein können [70]. Vor diesem Hintergrund wurden in der vorliegenden retrospektiven Arbeit die epidemiologischen sowie medizinischen Daten der in diese Studie eingeschlossenen PSC PatientInnen in Bezug auf den mAChR3 Auto-AK-Status ausgewertet, um einen möglichen Einfluss auf den Verlauf der PSC zu evaluieren. Da die PSC eine seltene Erkrankung ist, waren verfügbare Daten bisher limitiert. In dieser Studie wurden PatientInnen mit dem Status mAChR3+ und mAChR3- verglichen. Es wurden insgesamt 187 PatientInnen, darunter 118 aus dem Interdisziplinären Leberzentrum der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin (CVK) und 69 PatientInnen aus der Ambulanz für Lebertransplantation der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie des Campus Virchow-Klinikums (CVK) der Charité – Universitätsmedizin Berlin über einen außergewöhnlich langen Zeitraum untersucht. Es zeigte sich eine deutlich erhöhte Prävalenz der mAChR3 Auto-AK bei den PSC PatientInnen.

Folgende wesentliche Erkenntnisse können aus der Studie entnommen werden:

- Die Prävalenz von mAChR3 Auto-AK zeigte sich bei den PSC PatientInnen deutlich erhöht mit 33,66% im Vergleich zu der erkrankten Kontrollkohorte von PBC PatientInnen mit 11,2% und der gesunden Kontrollkohorte mit 2,5%.
- Die epidemiologischen Charakteristika der vorliegenden Kohorte glichen denen ähnlicher Kohorten tertiärer universitärer Zentren. Es zeigte sich kein signifikanter Einfluss durch mAChR3+ Auto-AK.
- Es gab keinen signifikanten Unterschied des klinischen Krankheitsverlaufes in Abhängigkeit des Auto-AK- Status. Es zeigten sich jedoch in der Tendenz häufiger schwere

## 4 Diskussion

Komplikationen wie Leberzirrhose und Aszites. mAChR3+ PSC PatientInnen zeigten außerdem häufiger einen MC und ein *Overlap* mit einer AIH.

- Es zeigten sich bei Erstdiagnose keine Unterschiede in Bezug auf die laborchemischen *Baseline*-Charakteristika in Abhängigkeit des Auto-AK Status. Die Auswertung des laborchemischen Verlaufes unter UDC zeigte nach einem Jahr höhere Cholestase-Parameter in der Gruppe der mAChR3+ PatientInnen. Die AP war bei den mAChR3- PSC PatientInnen nach 5 Jahren jedoch doppelt so hoch wie bei den mAChR3+ PSC PatientInnen. Allerdings war der Wert nach zehn Jahren erneut in der mAChR3+ Gruppe höher. Zum Ende der Beobachtungszeit fand sich kein signifikanter Unterschied.
- Funktionsdiagnostisch zeigte sich sowohl die extrahepatische als auch die Kombination aus intra- und extrahepatischer Manifestation bei mAChR3+ PSC PatientInnen häufiger.
- In Bezug auf die Entstehung von CCC zeigten sich bei geringen Fallzahlen in Gruppe der mAChR3- PatientInnen häufiger keine Dysplasien, während sie im Verlauf häufiger Karzinome entwickelten.
- Bei der Illustrierung des transplantfreien Überlebens zeigte sich in der Gruppe der internistischen PatientInnen kein signifikanter Unterschied in Abhängigkeit des Auto-AK Status.
- Anhand der vorliegenden Daten ließen sich keine Prädiktoren für eine LTX eruieren.
- Der Auto-AK-Status zeigte keinen Einfluss auf das *Outcome* der lebertransplantierten PSC PatientInnen: es zeigte sich kein Unterschied in Bezug auf das Auftreten eines PSC-Rezidivs oder einer ITBL.

In der vorliegenden Arbeit wurden von den initial 187 PSC PatientInnen insgesamt 179 eingeschlossen. Unter den PatientInnen aus dem Interdisziplinären Leberzentrum der Charité – Universitätsmedizin Berlin (CVK) waren 38,14% mAChR3+ (n=45) und 61,86 % mAChR3- (n=73). Unter den PSC PatientInnen der Ambulanz für Lebertransplantation der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der Charité-Universitätsmedizin Berlin (CVK) waren 26,09% mAChR3+ (n=18) und 73,91% mAChR3- (n=51). Die vorliegende Studie ist bisher die einzige Arbeit, welche anhand einer umfangreicheren Kohortengröße die Relevanz von erstmalig auch auf ihre Funktionalität getesteten mAChR3 Auto-AK auf den Krankheitsverlauf von PSC PatientInnen untersucht hat. In einer vorangegangenen Studie, die

## 4 Diskussion

sich vorwiegend mit der PBC beschäftigte, wurde unter anderem auch die Assoziation der mAChR3 Auto-AK mit der PSC bei zehn PatientInnen nachgewiesen [67]. Die vorliegende Arbeit konnte das erste Mal zeigen, dass mAChR3+Auto-AK bei PSC PatientInnen im Vergleich zu gesunden Kontrollen sowie im Vergleich zur erkrankten PBC-Kontrollkohorte signifikant häufiger vorkamen. Der Anteil an mAChR3+ PSC PatientInnen war mit 38,1% geringer im Vergleich zu mAChR3- PSC PatientInnen mit 61,9%.

In der vorliegenden Studie betrug der maximale Beobachtungszeitraum mehr als 26 Jahre, was einen beträchtlichen Zeitraum darstellt. Die mediane Beobachtungszeit der eingeschlossenen PatientInnen betrug 12 Jahre und 5 Monate bei den mAChR3+ sowie 12 Jahre bei den mAChR3- PSC PatientInnen.

Erkenntnisse dieser Studie im Kontext vergleichbarer Studien:

Die Beobachtungszeit liegt etwas unter einer sehr großen Multicenter-Studie, in der über 30 Jahre der Verlauf von PSC PatientInnen beobachtet wurde [26].

Zum Zeitpunkt der Erstdiagnose einer PSC gab es in der vorliegenden Arbeit hinsichtlich Alter und Geschlecht keine signifikanten Unterschiede. Es zeigte sich die erwartete Prädominanz des männlichen Geschlechts, wobei der Anteil der Männer bei den mAChR3+ PatientInnen 73,3% und bei den mAChR3- PSC PatientInnen 57,7% betrug. Dies zeigt eine höhere Anzahl männlicher Patienten in der mAChR3+ Gruppe im Vergleich zur mAChR3- Gruppe, wobei der Unterschied sich nicht als statistisch signifikant herausstellte. Diese Ergebnisse stehen im Einklang zu einer vorangegangenen Studie, welche sich neben der PBC auch mit der PSC befasste, die ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf Alter und Geschlecht in Abhängigkeit vom mAChR3 Auto-AK-Status feststellen konnte [67].

Das Alter bei Erstdiagnose der mAChR3+ PSC PatientInnen betrug 36 Jahre und 4 Monate während die mAChR3- PSC PatientInnen durchschnittlich 34 Jahre alt waren. Im Vergleich dazu waren die PSC PatientInnen in der einzigen Studie, die ebenfalls den mAChR3 Auto-AK-Status berücksichtigte, mit durchschnittlich 46 Jahren und 5 Monaten etwas älter [67]. Der Krankheitsverlauf von PSC PatientInnen ohne Berücksichtigung des mAChR3 Auto-AK-Status

## 4 Diskussion

ist in verschiedenen Studien untersucht worden, hier betrug der Altersmedian/-mittel bei Studieneinschluss 38 Jahre und 5 Monate [26], 32 Jahre und 4 Monate [9] sowie 44 Jahre [71]. Somit waren die PSC PatientInnen der vorliegenden Studie vergleichbar alt. Ein signifikanter Einfluss des mAChR3 Auto-AK-Status auf das Alter zum Zeitpunkt der Erstdiagnose konnte nicht nachgewiesen werden, allerdings wurde bei den mAChR3+ PSC PatientInnen die Erkrankung um nahezu zweieinhalb Jahre später diagnostiziert im Vergleich zu den mAChR3- PSC PatientInnen.

Auch was das Auftreten von *small-duct* PSC und Alter bei Einleiten der Therapie anging, zeigte sich kein Unterschied in Abhängigkeit des Auto-AK-Status. In der vorliegenden Kohorte lag der Anteil von *small-duct* Erkrankungen bei einem Prozent in der mAChR3- Gruppe, während die mAChR3+ PSC PatientInnen lediglich *large-duct* Erkrankungen aufwiesen. Es handelt sich um einen sehr geringen Anteil der Gesamtkohorte. Auch bei Tischendorf machte die *small-duct* PSC mit 3% nur einen geringen Anteil an der Gesamtkohorte aus [9]. In einer großen internationalen Kohorte lag die Anzahl von *large-duct* PSC bei 90,8% unter den Patienten und bei 88% unter den Patientinnen [26].

Es konnte festgestellt werden, dass die UDC-Dosis mit 12,1 mg/kg KG/Tag sowohl bei den mAChR3+ als auch bei den mAChR3- PSC PatientInnen mit einer UDC-Dosis von 11,5 mg/kg KG/Tag niedriger war als die Empfehlung der DGVS. Diese empfiehlt aktuell eine UDC-Dosis von 13-23 mg/kg KG/Tag. Der dosisabhängige Effekt einer Therapie mit UDC ist in mehreren größeren Studien gezeigt worden. So konnte nachgewiesen werden, dass sich eine Dosis von 13-23 mg/kg KG/Tag günstig auf den Krankheitsverlauf auswirkt [72]. Im Gegensatz dazu zeigte sich eine hohe UDC-Dosis mit 28-30 mg/kg KG/Tag prognostisch ungünstig in Bezug auf den Krankheitsverlauf [39]. Eine andere retrospektive Studie konnte nachweisen, dass eine UDC-Dosis von 8-13 mg/kg KG/Tag zum Einen sicher war und zum Anderen einen günstigen Effekt auf den Verlauf der Laborparameter und die Symptomatik hat [73]. Insgesamt kann somit nicht ausgeschlossen werden, dass die in der vorliegenden retrospektiven Studie beobachtete UDC-Dosis einen möglicherweise zu geringem Effekt auf den Verlauf der Laborparameter und die Symptomatik der eingeschlossenen mAChR3+ sowie mAChR3- PSC PatientInnen hatte.

## 4 Diskussion

Die Auswertung der Laborparameter zum Zeitpunkt der Erstdiagnose ergab, dass die Cholestaseparameter und Transaminasen der PSC PatientInnen erhöht waren. Ein Effekt in Abhängigkeit des mAChR3 Auto-AK-Status konnte nicht festgestellt werden. Im Vergleich dazu konnte in einer vorangegangenen Studie erhöhte Werte für das Bilirubin sowie die AP nachgewiesen werden [67]. Weitere Studien haben die laborchemischen Parameter zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses, nicht jedoch in Hinblick auf den mAChR3 Auto-AK-Status, untersucht. Es konnten sowohl erhöhte Cholestaseparameter als auch normwertige Cholestaseparameter nachgewiesen werden [71].

In Bezug auf die Laborchemie lässt sich äußern, dass lediglich die  $\gamma$ GT bei den mAChR3+ PSC PatientInnen erhöht war im Vergleich zu den mAChR3- PSC PatientInnen. Die nach einem Jahr insignifikant höheren Cholestase-Parameter in der mAChR3+ Gruppe muss vor dem Hintergrund der späteren Diagnosestellung in dieser Gruppe betrachtet werden. Ansonsten hatten die mAChR3- PSC PatientInnen sogar schlechtere Laborwerte, wobei es jedoch keine Signifikanzen gab. Bei dem 5-Jahres-Aprechen gab es tatsächlich eine signifikant erhöhte AP bei den mAChR3- PSC PatientInnen. Dieser Unterschied hob sich allerdings bei den 10-Jahres-Ansprechraten unter Therapie auf. Dabei muss man hinzufügen, dass für das Berechnen der 10-Jahresansprechraten deutlich geringere Datenmengen verfügbar waren.

Unabhängig vom mAChR3 Auto-AK-Status war ein hoher prozentualer Anteil der PSC PatientInnen an einer CED erkrankt, wobei die CU im Vergleich zum MC deutlich häufiger nachgewiesen werden konnte. Diese Beobachtung deckt sich mit vorangegangenen Studien. In der vorliegenden Arbeit war das Auftreten der CU mit 57,5% wie erwartet häufiger als der MC mit 9,6% bei den mAChR3- PSC PatientInnen, und 51,1% CU und 15,6% MC bei den mAChR3+ PSC PatientInnen. Insgesamt hatten 67,1% eine CED – und zwar unabhängig vom mAChR3 Auto-AK- Status. Bei Tischendorf im Vergleich hatten 63% CED, 52% eine CU, 11% einen MC. Die internationale Studie von Weismüller et al. wies mit 38% PSC-CU PatientInnen einen deutlich geringeren Anteil an CU auf [26]. In der vorliegenden Kohorte konnte bei insgesamt über 24,9% ein *Overlap*-Syndrom mit einer AIH erfasst werden. Dabei wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den mAChR3-Gruppen eruiert, wobei die deutliche Mehrzahl an PSC-AIH *Overlap*-Syndromen bei den mAChR3+ PSC PatientInnen

## 4 Diskussion

auftrat. Damit sind die Zahlen vergleichsweise hoch. In einer zum Vergleich herangezogenen deutschen Studie konnten dagegen bei nur 8% der PatientInnen ein *Overlap*-Syndrom diagnostiziert werden [9]. Auch in einer internationalen Vergleichskohorte waren es nur 6,6% PSC-AIH *Overlap*-Syndrome [26].

Das CCC war in der vorliegenden Studie mit 16,7% die am häufigsten aufgetretene Neoplasie. Es trat in beiden Gruppen gleichermaßen häufig auf. Ähnliche Zahlen finden sich in vergleichbaren Kohorten: In der Arbeit von Weismüller et al. hatten 594 PatientInnen von 7127 PatientInnen ein CCC [26], bei Tischendorf et al. sind es 14,3% PatientInnen mit hepatobiliären Neoplasien. Ein CCC trat bei 13,2% der PatientInnen, bei 0,7% ein GBC und bei 0,4% ein HCC auf [9]. In der vorliegenden Studie zeigten sich bei den mAChR3+ PSC PatientInnen häufiger leichte bis mittelschwere Dysplasien. Im Verlauf entwickelten mAChR3- PSC PatientInnen jedoch mehr schwere Dysplasien und Karzinome. In der vorliegenden Kohorte wurde das CRC als zweithäufigste Neoplasie mit insgesamt 11,2% beobachtet. Bei Weismüller et al. und Tischendorf et al. finden sich keine Zahlen zum Vergleich, in beiden Arbeiten wird das Auftreten hepatopankreatobiliärer Neoplasien beschrieben und erörtert [9, 26]. Es ist nicht sicher auszuschließen, dass der chemoprotektive Effekt von UDC durch die in der vorliegenden Studie zu gering gewählte Dosis sich nicht komplett entfalten konnte.

In der Kohorte der PatientInnen, welche in dem Interdisziplinären Leberzentrum der Klinik für Hepatologie und Gastroenterologie sowie in der Ambulanz für Lebertransplantation der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie (CVK) aufgrund einer PSC in Behandlung waren, betrug das Überleben im Median 20 bzw. 19 Jahre bei den mAChR3+ bzw. mAChR3- PSC PatientInnen. Ein signifikanter Unterschied in der Überlebenszeit zwischen den vorliegenden Gruppen konnte nicht nachgewiesen werden. Vergleichbare Studien konnten ein deutlich niedrigeres medianes Überleben von 14 Jahren und 5 Monaten [26] bzw. 9 Jahren und 6 Monaten [9] beobachten.

Die Lokalisation der PSC typischen Veränderungen war in der vorliegenden Studie hauptsächlich sowohl intra- als auch extrahepatisch mit 61,8 % bei den mAChR3+ PSC PatientInnen versus 51,8% mAChR3- PSC PatientInnen. Dies bedeutet, dass nicht signifikant

## 4 Diskussion

mehr mAChR3+ PSC PatientInnen einen schweren Befall - sowohl der extrahepatischen als auch der intrahepatischen Gallengänge - aufwiesen. Es finden sich mit 68% intra- und extrahepatischen Pathologien bei Tischendorf ähnlich hohe Zahlen [9]. In der vorliegenden Kohorte hatten deutlich mehr PSC PatientInnen eine nur extrahepatische Manifestation mit 23,5% bei den mAChR3+ PSC PatientInnen bzw. 19,6% mAChR3- PSC PatientInnen im Vergleich zu 4% nur extrahepatischen Manifestationen bei Tischendorf [9]. Extrahepatische Manifestationen sind laut Literatur häufig frühe PSC-Stadien [74]. Ein Viertel der PatientInnen hatten bei Tischendorf nur intrahepatische Veränderungen entsprechen der Zahl der mAChR3- PSC PatientInnen der vorliegenden Kohorte gegenüber deutlich weniger mAChR3- PSC PatientInnen in der vorliegenden Kohorte mit nur 14,7% [9].

Komplikationen wie Aszites und Leberzirrhose waren bei den mAChR3+ PSC PatientInnen vergleichsweise häufiger. Aszites trat bei über einem Sechstel der mAChR3+ PSC PatientInnen und damit doppelt so häufig wie bei den mAChR3- PSC PatientInnen auf. Eine Leberzirrhose trat bei mehr als einem Drittel der PSC PatientInnen auf, wobei auch hier die mAChR3+ PSC PatientInnen häufiger betroffen waren. Damit hatten mAChR3+ PSC PatientInnen einen deutlichen Trend zu den schwerwiegenderen Komplikationen.

Das Überleben in der Gruppe der internistischen PatientInnen fiel bei den mAChR3+ PSC PatientInnen von 95,3% nach einem Jahr auf 74,4% nach 15 Jahren und bei mAChR3- PSC PatientInnen von 91% nach einem Jahr auf 79,1% nach 15 Jahren.

Während in dieser aktuellen Studie 36,90% lebertransplantiert worden sind, waren es bei Tischendorf et al. rund 40 % [9]. Aus beiden Studien können allerdings keine allgemeingültigen Schlüsse gezogen werden, da PatientInnen tertiärer universitärer Zentren im Allgemeinen eher kränker sind als DurchschnittspatientInnen. Zumindest in dem vorliegenden Fall waren die PatientInnen aus der Ambulanz für Lebertransplantation der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der Charité- Universitätsmedizin Berlin, CVK, vermutlich allgemein im Schnitt kränker als jene aus dem Interdisziplinären Leberzentrum der Charité – Universitätsmedizin Berlin, CVK und sich schon mit dem Ziel, lebertransplantiert zu werden, dort vorstellten.

## 4 Diskussion

In der Gruppe aus der Ambulanz für Lebertransplantation der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der Charité- Universitätsmedizin Berlin, CVK, wurde die Rezidivrate nach LTX und die Rate einer ITBL nach LTX analysiert. Dabei zeigte sich kein Unterschied in der Häufigkeit des Auftretens von Rezidiven oder ITBL nach LTX in Abhängigkeit des mAChR3-Status. Bei einem Zehntel der PSC PatientInnen der vorliegenden Studie trat im Median die Rekurrenz einer PSC auf. Alabraba et al. hatten zuvor mit 23,5% in einer deutlich größeren Studie höhere Zahlen einer Rekurrenz der Erkrankung publiziert. Der größte Einflussfaktor in dieser Studie war eine erfolgte Kolektomie [75]. Diese Unterschiede sind unter Anderem auch auf die Länge der Beobachtungszeit zurück zu führen. In einer kleineren, neueren, japanischen Studie von Ueda et al. mit 45 transplantierten PSC PatientInnen trat bei 40% der PatientInnen 30 Monate post-LTX im Median erneut eine PSC auf [76].

Die Zusammenschau der hier vorliegenden Daten zeige keinen eindeutigen Trend in der Frage, ob dysfunktionale ACh-vermittelte Signalwege durch spezifische inhibitorische mAChR3 Auto-AK bei der Pathogenese der PSC eine Bedeutung haben. Aufgrund der oben genannten Erkenntnisse kann dies allerdings nach wie vor nicht ausgeschlossen werden, da die Daten zur ausreichenden Beantwortung der Frage nicht ausreichen. So zeigte die hier untersuchte PSC Kohorte PatientInnen mit inhibitorischen mAChR3 Auto-AK wenige, größtenteils insignifikante Unterschiede in Bezug auf den Krankheitsverlauf. Aufgrund der hohen Prävalenz der erstmalig auch auf ihre Funktionalität getesteten mAChR3 Auto-AK sollte die Auseinandersetzung mit der Frage nach ihrer Rolle nach wie vor im Interesse der Forschung liegen. Interessant waren die hohen Zahlen an AIH-*Overlap*-Syndromen bei mAChR3+ PSC PatientInnen, sowie das häufigere Auftreten von Komplikationen wie Aszites und Leberzirrhose in der AK positiven Gruppe. Ebenso fiel die Häufung eines schweren bzw. fortgeschrittenen Ausmaßes, das heißt die Kombination aus intra- und extrahepatischer Manifestation, bei den mAChR3+ PSC PatientInnen auf. Diese Beobachtungen, sowie einige Forschungsergebnisse in diesem Kontext [67, 77-81] könnten ein Zeichen für einen Einfluss der mAChR3 bei der Pathogenese der PSC sein. An dieser Stelle liegt nochmal die Betonung auf den Erkenntnissen zur Relevanz von mAChR3 bei der Entstehung von CCC. Denn die Erforschung zur Entstehung des CCC ist aufgrund der damit verbundenen Mortalität für PSC PatientInnen hoch relevant.

## 4 Diskussion

Die vorliegende Studie hat erkenntnistheoretische Limitationen aufgrund des retrospektiven Charakters. Es gehen aus der Arbeit keine Kausalzusammenhänge hervor. Zudem handelt es sich zwar um eine insgesamt große Kohorte, jedoch stellten sich bei der Datenerhebung in vielen Fällen Mängel in der Dokumentation heraus. Da es sich um eine seltene Erkrankung handelt, deren Behandlung tertiären Zentren vorbehalten sein sollten, sind viele PatientInnen anderenorts wohnhaft und dementsprechend nicht regelmäßig bei allen vorgesehenen Kontrollen. Außerdem kann bei den Daten einer Universitätsklinik kein *Bias* ausgeschlossen werden. Wie bereits erwähnt, ist es dementsprechend wahrscheinlich, dass es sich um kränkere PatientInnen handelt und die Kohorte deshalb nicht repräsentativ ist. Dazu kommt, dass sich durch die Einteilung in internistische und transplantierte PatientInnen nach mAChR3-Status unterschiedlich große Fallzahlen ergeben haben. Im Falle der transplantierten PSC PatientInnen waren die Zahlen zu gering, um ausreichende Schlüsse ziehen zu können. Desweiteren ist die Durchsicht vorwiegend handschriftlicher PatientInnen-Akten trotz größter Sorgfalt fehleranfällig. Auch dies muss als potentielle Fehlerquelle Erwähnung finden. Hinzu kam, dass sich durch den chronischen Verlauf der Erkrankung und die teilweise späte Diagnosestellung, auf Basis der vorhandenen Daten nur eingeschränkte Schlüsse in Bezug auf das Erstdiagnosedatum machen lassen.

Im Gegensatz zu den hier dargelegten Ergebnissen bei der PSC, hat sich Rolle von mAChR3 Auto-AK bei der Pathogenese der PBC kürzlich eindeutig als relevant gezeigt. Dabei wurde zum Einen ein relevantes Gen nachgewiesen [82] und zum Anderen zeigte sich ein negativer Einfluss von mAChR3 Auto-AK auf den auch laborchemischen Verlauf der PBC [83]. Der CHRM3 Single Nukleotid Polymorphismus rs4620530 könnte mit einem erhöhten genetischen Risiko, an einer PBC zu erkranken, assoziiert sein [82]. Es wurde an zwei unabhängigen universitären Zentren bei mehreren hunderten PBC und PSC PatientInnen im Vergleich zu chronischen Hepatitis C PatientInnen und einer gesunden Kontrollkohorte eine CHRM3 Genotypisierung vorgenommen. In diesen beiden Zentren wurde in einer weiteren Studie, die Teil einer anderen Dissertation ist, auch die Laborchemie von PBC PatientInnen in Anhängigkeit des Auto-AK Status untersucht [83]. Dabei zeigten sich signifikant höhere Werte der AP,  $\gamma$ GT und Bilirubin bei mAChR3+ im Vergleich zu mAChR3- PBC PatientInnen. Außerdem zeigte sich eine höhere Rate an inadäquatem UDC Therapie-Ansprechen bei

## 4 Diskussion

mAChR3+ PBC PatientInnen. Zudem zeigte sich eine höhere LTX-Rate im Vergleich zu mAChR3- PBC PatientInnen. Vermutlich hängen die unterschiedlichen Ergebnisse in Bezug auf die Bedeutung der mAChR3 Auto-AK bei der PSC und der PBC mit der unterschiedlichen Pathogenese der beiden Erkrankungen zusammen. Sowohl die PSC als auch die PBC haben eine hochkomplexe multifaktorielle Genese [84, 85]. Die PBC hat mit stark erhöhten gegen den Pyruvatdehydrogenase-Komplex der Mitochondrien von BECs gerichteten AMAs eine größere autoimmune Komponente [86]. Bei der PSC lassen sich laborchemisch häufig ANCA finden [87]. Dass die PSC und die PBC sich hinsichtlich ihrer Ätiologie stark unterscheiden, wird deutlich im Hinblick auf ihre Begleiterkrankungen. Die PBC ist vor allem mit anderen Autoimmunerkrankungen wie der Autoimmunthyreoiditis, Rheumatorider Arthritis oder dem Sjögren-Syndrom vergesellschaftet [88], während die PSC stark mit CED assoziiert ist [26]. In der Literatur wird im Zusammenhang mit PSC und CED vor allem von „*Gut liver cross talk*“ [89] oder der „*gut-liver axis*“ [54] gesprochen. Dabei wird der bidirektionale Zusammenhang zwischen Leber und dem Darm über die Pfortader als wichtiger Faktor im Zusammenhang mit der Inflammation beschrieben. Bei der PSC und bei der PBC hat der obliterierende Charakter und die konsekutive Cholestase einen Einfluss auf die reziproke Interaktion zwischen Leber und Darm und damit auf die Zusammensetzung des Mikrobioms und der Gallensäure. Die modifizierte Zusammensetzung der Gallensäuren scheint die Anfälligkeit für Infektionen zu erhöhen und die Integrität der Epithelzellbarrieren zu schädigen. Wegen der Nähe zum Darm und aufgrund der Blutstromrichtung könnte es einen metabolischen bzw. mikrobiologischen Zusammenhang geben, der zur inflammatorischen Immunreaktion beiträgt [90]. Aufgrund der pathologischen Interaktion zwischen Leber und Darm bei der PSC, lohnt sich ein Blick auf die intestinalen Epithelzellen (IECs). Ein Grund für die Annahme, dass mAChR3 Auto-AK eine Rolle bei der Pathogenese der PSC spielen könnten, ist die Tatsache, dass ACh als einer der wichtigsten Regulatoren in IECs bekannt ist. Dabei spielt ACh insbesondere in Bezug auf Ionentransport und Zellproliferation eine Rolle. Die ACh Signaltansduktion erfolgt dabei sowohl über den nicotinergen als auch über muskarinerge ACh Rezeptoren, darunter mAChR3. Es zeigten sich bereits positive Auswirkungen cholinergischer Aktivierung auf die intestinale Barrierefunktion. In einer Studie wurde beispielsweise ein positiver Effekt von mAChR auf die TNF-alpha induzierte Barrierefunktionsdysfunktion in IECs beobachtet. TNF-alpha ist als pro-inflammatorisches Zytokin maßgeblich an der kompromittierten Barrierefunktion bei CED

## 4 Diskussion

bekannt. Uwada et al. zeigten, dass die mAChR3 induzierte Aktivierung von p38 MAPK durch die verminderte Aktivierung der TNF-alpha Signalkaskade und EGFR Aktivierung zum Erhalt der Epithelzellbarrierefunktion beitragen könnte [80].

Auch BECs scheinen nicht nur Ziel der Entzündung bei beiden Erkrankungen zu sein, sondern aktiv dazu beizutragen [79]. Der mAChR3 wird vor allem im Gallengangsystem exprimiert und die Prävalenz ist auch bei der PSC stark erhöht. Bei der PBC wurde der mAChR3 bereits als potentieller diagnostischer Marker evaluiert [67]. Zudem wird mAChR3 auch in exokrinen Drüsen und glatten Muskelzellen exprimiert und konnte bei dem mit der PBC assoziierten autoimmunen Sjögren-Syndrom detektiert werden [68]. Das hochgradige Auftreten sogenannter Anti-BEC AK wurde bei der PSC im Vergleich häufiger nachgewiesen als bei der PBC, AIH und in einer gesunden Kontrollgruppe. Die AK hatte man aus den Seren der unterschiedlich erkrankten PatientInnen isoliert und die Reaktion von BECs aus gesundem Lebergewebe untersucht. Lungenepithelzellen (LECs) wurden zur Kontrolle genutzt. Das Auftreten von anti-BEC AK zeigte sich in besonderem Maße bei PSC PatientInnen mit HLA DRB1\*0301 oder DR2 Allelen. Insbesondere die erhöhte Expression des proinflammatorischen Zytokins IL-6 in BECs durch AK von PSC und PBC PatientInnen im Gegensatz zu AIH PatientInnen fiel auf. Außerdem wurde ein erhöhtes Level des Zelladhäsionsmoleküls CD44 in den Versuchsreihen mit IgM und IgG von PSC und PBC PatientInnen beobachtet. All diese Faktoren spielen vermutlich eine wichtige Rolle in der Zerstörung der Gallengänge bei den besagten Erkrankungen [79].

Das CCC ist mit für die hohe Mortalität bei PSC PatientInnen verantwortlich [91]. Die verstärkte Expression des bei gastrointestinalen Tumoren häufig vorkommenden mAChR3 zeigte sich in Studien als ein relevanter Faktor bei der Entstehung des CCC [77, 78]. Bei einer Untersuchung kultivierter Tumorzellen aus 60 humanen CCC-Gewebeproben im Vergleich zu normalem biliären Gewebe wurde die Expression von mAChR3 im Kontext der klinischen Prognose untersucht und evaluiert. Dabei zeigte sich eine starke Expression von mAChR3 und ein Einfluss auf die Tumorzellmigration, Perineuralinvasion und Metastasierung über den AKT Signalweg. Die Behandlung der CCC-Zellen mit dem mAChR3 Agonisten Pilocarpin war mit vermehrter Migration und Perineuralinvasion assoziiert, während Atropin als Antagonist diesen

## 4 Diskussion

Effekt blockierte. Bei mAChR3 *knockdown* Zellen zeigte sich geringere Zellmigration und Perineuralinvasion. Der AKT Signalweg und Epitheliale mesenchymale Transition (EMT) schienen ebenfalls durch Pilocarpin beeinträchtigt, während Atropin diesen Effekt blockierte. Ein AKT *knockdown* verminderte die mAChR3 Expression. Das Überleben von CCC-PatientInnen mit überexprimiertem mAChR3 war in dieser Studie kürzer im Vergleich zu PatientInnen mit niedriger Expression von mAChR3 [78]. Vor diesem Hintergrund scheint die hier erhobene Beobachtung, dass der individuelle mAChR3-Auto-Ak Status möglicherweise mit dem Auftreten von Dysplasien in den DHC-Bürstenzytologien assoziiert werden kann, durchaus für weitere Untersuchungen interessant.

Vor dem Hintergrund wegweisender experimenteller Voruntersuchungen, Publikationen unterschiedlicher Forschungsgruppen zur Rolle von mAChR3 und den noch Fragen aufwerfenden Ergebnissen dieser Studie erscheint die weitere prospektive klinische Erforschung von PSC- Krankheitsverläufen im Rahmen einer Multicenter-Studie sinnvoll. Um den möglichen Einfluss mAChR3-vermittelter Signalwege auf die Pathogenese und das Therapieansprechen bei der PSC zu evaluieren, wäre eine sehr hohe Fallzahl mit einer erneuten Verlaufsbeobachtung über Jahrzehnte von Nöten. Dies wäre zum Beispiel im Rahmen der internationalen PSC Studiengruppe (IPSCSG), an der die hiesige Arbeitsgruppe aktiv teilnimmt, möglich.

## 5 Literaturverzeichnis

### 5 Literaturverzeichnis

[1] Hirschfield G. M., Karlsen T. H., Lindor K. D., Adams D. H. *Primary sclerosing cholangitis*. Lancet. 2013;382(9904):1587-99.

[2] Strassburg Christian P., Beckebaum Susanne, Geier Andreas, Gotthardt Daniel, Klein Reinhild, Melter Michael, Schott Eckart, Spengler Ulrich, Tacke Frank, Trauner Michael, Weiler-Normann Christina, Weismüller Tobias J., Tannapfel Andrea, Tischendorf Jens J., Schramm Christoph, Albert Jörg, Allescher Hans-Dieter, Antoni Christoph, Berg Christoph, Bufler Philip, Dannel Frank, Dietrich Christoph, Engelmann Guido, Feist Eugen, Fickert Peter, Fischer Lutz, Flechtenmacher Christa, Friedrich-Rust Mireen, Giek Angelika, Görtz Rüdiger Stephan, Herzer Kerstin, Hofer Harald, Hohenester Simon, Höhn Mariele, Hüppe Dietrich, In der Smitten Susanne, Jahnelt Jörg, Keitel-Anselmino Verena, Kirchner Gabriele, Kremer Andreas, Lauenstein Andreas, Lenzen Henrike, Mayerle Julia, Müller Tobias, Müllhaupt Beat, Nashan Björn, Rust Christian, Schattenberg Jörn M., Schmidt Hartmut, Schreyer Andreas, Sebode Marcial, Siegmund Britta, Terjung Birgit, Teufel Andreas, van Thiel Ingo, Wirth Stefan, Witte Torsten, Beuers Ulrich, Gerken Guido, Graziadei Ivo, Lohse Ansgar, Manns Michael P., Tilg Herbert. *S2k Leitlinie Autoimmune Lebererkrankungen*. Z Gastroenterol. 2017;55(11):1135-226.

[3] van Buuren H. R., van Hoogstraten H. J. E., Terkivatan T., Schalm S. W., Vleggaar F. P. *High prevalence of autoimmune hepatitis among patients with primary sclerosing cholangitis*. J Hepatol. 2000;33(4):543-8.

[4] Tanaka A. *IgG4-Related Sclerosing Cholangitis and Primary Sclerosing Cholangitis*. Gut Liver. 2019;13(3):300-7.

[5] Talwalkar J. A., Lindor K. D. *Primary sclerosing cholangitis*. Inflamm Bowel Dis. 2005;11(1):62-72.

[6] Broomé Ulrika, Bergquist Annika. *Primary Sclerosing Cholangitis, Inflammatory Bowel Disease, and Colon Cancer*. Seminars in Liver Disease. 2006;26(01):031-41.

[7] Verdonk R. C., Dijkstra G., Haagsma E. B., Shostrom V. K., Van den Berg A. P., Kleibeuker J. H., Langnas A. N., Sudan D. L. *Inflammatory bowel disease after liver transplantation: risk factors for recurrence and de novo disease*. American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 2006;6(6):1422-9.

## 5 Literaturverzeichnis

- [8] Lee Y. M., Kaplan M. M. *Primary sclerosing cholangitis*. N Engl J Med. 1995;332(14):924-33.
- [9] Tischendorf Jens J. W., Hecker Hartmut, Kruger Martin, Manns Michael P., Meier Peter N. *Characterization, outcome, and prognosis in 273 patients with primary sclerosing cholangitis: A single center study*. The American journal of gastroenterology. 2007;102(1):107-14.
- [10] Benito de Valle M., Muller T., Bjornsson E., Otten M., Volkmann M., Guckelberger O., Wiedenmann B., Sadik R., Schott E., Andersson M., Berg T., Lindkvist B. *The impact of elevated serum IgG4 levels in patients with primary sclerosing cholangitis*. Dig Liver Dis. 2014;46(10):903-8.
- [11] Bjornsson E., Chari S., Silveira M., Gossard A., Takahashi N., Smyrk T., Lindor K. *Primary sclerosing cholangitis associated with elevated immunoglobulin G4: clinical characteristics and response to therapy*. Am J Ther. 2011;18(3):198-205.
- [12] Mendes F. D., Jorgensen R., Keach J., Katzmann J. A., Smyrk T., Donlinger J., Chari S., Lindor K. D. *Elevated serum IgG4 concentration in patients with primary sclerosing cholangitis*. Am J Gastroenterol. 2006;101(9):2070-5.
- [13] Zhang L., Lewis J. T., Abraham S. C., Smyrk T. C., Leung S., Chari S. T., Poterucha J. J., Rosen C. B., Lohse C. M., Katzmann J. A., Wu T. T. *IgG4+ plasma cell infiltrates in liver explants with primary sclerosing cholangitis*. Am J Surg Pathol. 2010;34(1):88-94.
- [14] Bjornsson E., Boberg K. M., Cullen S., Fleming K., Clausen O. P., Fausa O., Schrumpf E., Chapman R. W. *Patients with small duct primary sclerosing cholangitis have a favourable long term prognosis*. Gut. 2002;51(5):731-5.
- [15] Boberg K. M., Aadland E., Jahnsen J., Raknerud N., Stiris M., Bell H. *Incidence and prevalence of primary biliary cirrhosis, primary sclerosing cholangitis, and autoimmune hepatitis in a Norwegian population*. Scand J Gastroenterol. 1998;33(1):99-103.
- [16] Lindkvist B., Benito de Valle M., Gullberg B., Bjornsson E. *Incidence and prevalence of primary sclerosing cholangitis in a defined adult population in Sweden*. Hepatology. 2010;52(2):571-7.
- [17] Boonstra K., Weersma R. K., van Erpecum K. J., Rauws E. A., Spanier B. W., Poen A. C., van Nieuwkerk K. M., Drenth J. P., Witteman B. J., Tuynman H. A., Naber A. H., Kingma P. J., van Buuren H. R., van Hoek B., Vleggaar F. P., van Geloven N., Beuers U., Ponsioen C. Y., Epi Pscpcb Study Group. *Population-based epidemiology, malignancy risk, and outcome of primary sclerosing cholangitis*. Hepatology. 2013;58(6):2045-55.

## 5 Literaturverzeichnis

- [18] de Vries E. M., Wang J., Williamson K. D., Leeftang M. M., Boonstra K., Weersma R. K., Beuers U., Chapman R. W., Geskus R. B., Ponsioen C. Y. *A novel prognostic model for transplant-free survival in primary sclerosing cholangitis*. Gut. 2018;67(10):1864-9.
- [19] Ponsioen C. Y., Vrouenraets S. M., Prawirodirdjo W., Rajaram R., Rauws E. A., Mulder C. J., Reitsma J. B., Heisterkamp S. H., Tytgat G. N. *Natural history of primary sclerosing cholangitis and prognostic value of cholangiography in a Dutch population*. Gut. 2002;51(4):562-6.
- [20] de Vries E. M., Wang J., Leeftang M. M., Boonstra K., Weersma R. K., Beuers U. H., Geskus R. B., Ponsioen C. Y. *Alkaline phosphatase at diagnosis of primary sclerosing cholangitis and 1 year later: evaluation of prognostic value*. Liver Int. 2016;36(12):1867-75.
- [21] Ngu J. H., Geary R. B., Frampton C. M., Stedman C. A. *Mortality and the risk of malignancy in autoimmune liver diseases: a population-based study in Canterbury, New Zealand*. Hepatology. 2012;55(2):522-9.
- [22] Ananthakrishnan A. N., Cagan A., Gainer V. S., Cheng S. C., Cai T., Szolovits P., Shaw S. Y., Churchill S., Karlson E. W., Murphy S. N., Kohane I., Liao K. P. *Mortality and extraintestinal cancers in patients with primary sclerosing cholangitis and inflammatory bowel disease*. J Crohns Colitis. 2014;8(9):956-63.
- [23] Dave M., Elmunzer B. J., Dwamena B. A., Higgins P. D. *Primary sclerosing cholangitis: meta-analysis of diagnostic performance of MR cholangiopancreatography*. Radiology. 2010;256(2):387-96.
- [24] Levy C., Lindor K. D. *Primary sclerosing cholangitis: epidemiology, natural history, and prognosis*. Semin Liver Dis. 2006;26(1):22-30.
- [25] Kaya M., Angulo P., Lindor K. D. *Overlap of autoimmune hepatitis and primary sclerosing cholangitis: an evaluation of a modified scoring system*. J Hepatol. 2000;33(4):537-42.
- [26] Weismuller T. J., Trivedi P. J., Bergquist A., Imam M., Lenzen H., Ponsioen C. Y., Holm K., Gotthardt D., Farkkila M. A., Marschall H. U., Thorburn D., Weersma R. K., Fevery J., Mueller T., Chazouilleres O., Schulze K., Lazaridis K. N., Almer S., Pereira S. P., Levy C., Mason A., Naess S., Bowlus C. L., Floreani A., Halilbasic E., Yimam K. K., Milkiewicz P., Beuers U., Huynh D. K., Pares A., Manser C. N., Dalekos G. N., Eksteen B., Invernizzi P., Berg C. P., Kirchner G. I., Sarrazin C., Zimmer V., Fabris L., Braun F., Marzioni M., Juran B. D., Said K., Rupp C., Jokelainen K., Benito de Valle M., Saffioti F., Cheung A., Trauner M., Schramm C., Chapman R. W., Karlsen T. H., Schrupf E., Strassburg C. P., Manns M. P., Lindor K. D., Hirschfield G. M., Hansen B. E., Boberg K. M., International P. S. C. Study Group. *Patient Age, Sex, and Inflammatory Bowel Disease Phenotype Associate With Course of Primary Sclerosing Cholangitis*. Gastroenterology. 2017;152(8):1975-84 e8.

## 5 Literaturverzeichnis

- [27] Card T. R., Solaymani-Dodaran M., West J. *Incidence and mortality of primary sclerosing cholangitis in the UK: a population-based cohort study*. J Hepatol. 2008;48(6):939-44.
- [28] Tischendorf J. J., Meier P. N., Strassburg C. P., Klempnauer J., Hecker H., Manns M. P., Kruger M. *Characterization and clinical course of hepatobiliary carcinoma in patients with primary sclerosing cholangitis*. Scand J Gastroenterol. 2006;41(10):1227-34.
- [29] Razumilava N., Gores G. J., Lindor K. D. *Cancer surveillance in patients with primary sclerosing cholangitis*. Hepatology. 2011;54(5):1842-52.
- [30] Stiehl A., Rost D. *Endoscopic treatment of dominant stenoses in patients with primary sclerosing cholangitis*. Clin Rev Allergy Immunol. 2005;28(2):159-65.
- [31] Soetikno R. M., Lin O. S., Heidenreich P. A., Young H. S., Blackstone M. O. *Increased risk of colorectal neoplasia in patients with primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis: a meta-analysis*. Gastrointest Endosc. 2002;56(1):48-54.
- [32] Bjornsson E., Chari S. T., Smyrk T. C., Lindor K. *Immunoglobulin G4 associated cholangitis: description of an emerging clinical entity based on review of the literature*. Hepatology. 2007;45(6):1547-54.
- [33] Burak K. W., Angulo P., Lindor K. D. *Is there a role for liver biopsy in primary sclerosing cholangitis?* Am J Gastroenterol. 2003;98(5):1155-8.
- [34] Ludwig J., Barham S. S., LaRusso N. F., Elveback L. R., Wiesner R. H., McCall J. T. *Morphologic features of chronic hepatitis associated with primary sclerosing cholangitis and chronic ulcerative colitis*. Hepatology. 1981;1(6):632-40.
- [35] Desmet V. J., Gerber M., Hoofnagle J. H., Manns M., Scheuer P. J. *Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging*. Hepatology. 1994;19(6):1513-20.
- [36] Lindor K. D. *Ursodiol for primary sclerosing cholangitis*. Mayo Primary Sclerosing Cholangitis-Ursodeoxycholic Acid Study Group. N Engl J Med. 1997;336(10):691-5.
- [37] European Association for the Study of the Liver. *EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases*. J Hepatol. 2009;51(2):237-67.
- [38] Chapman R., Fevery J., Kalloo A., Nagorney D. M., Boberg K. M., Shneider B., Gores G. J., American Association for the Study of Liver Diseases. *Diagnosis and management of primary sclerosing cholangitis*. Hepatology. 2010;51(2):660-78.
- [39] Lindor K. D., Kowdley K. V., Luketic V. A., Harrison M. E., McCashland T., Befeler A. S., Harnois D., Jorgensen R., Petz J., Keach J., Mooney J., Sargeant C., Braaten J., Bernard T.,

## 5 Literaturverzeichnis

King D., Miceli E., Schmoll J., Hoskin T., Thapa P., Enders F. *High-dose ursodeoxycholic acid for the treatment of primary sclerosing cholangitis*. *Hepatology*. 2009;50(3):808-14.

[40] Rudolph G., Gotthardt D., Kloters-Plachky P., Kulaksiz H., Rost D., Stiehl A. *Influence of dominant bile duct stenoses and biliary infections on outcome in primary sclerosing cholangitis*. *J Hepatol*. 2009;51(1):149-55.

[41] Bruix J., Llovet J. M. *Prognostic prediction and treatment strategy in hepatocellular carcinoma*. *Hepatology*. 2002;35(3):519-24.

[42] Hoffmann K., Hinz U., Hillebrand N., Ganten T., Gotthardt D., Longerich T., Schirmacher P., Schemmer P. *The MELD score predicts the short-term and overall survival after liver transplantation in patients with primary sclerosing cholangitis or autoimmune liver diseases*. *Langenbecks Arch Surg*. 2014;399(8):1001-9.

[43] *Bundesärztekammer Richtlinien für die Wartelistenführung und die Organvermittlung. Richtlinien zur Organtransplantation gemäß §16 Transplantationsgesetz*. 2017 updated 20.06.2017  
<https://www.bundesaerztekammer.de/richtlinien/richtlinien/transplantationsmedizin/richtlinie-n-fuer-die-wartelistenfuehrung-und-die-organvermittlung/>.

[44] Visseren T., Darwish Murad S. *Recurrence of primary sclerosing cholangitis, primary biliary cholangitis and auto-immune hepatitis after liver transplantation*. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2017;31(2):187-98.

[45] Graziadei I. W., Wiesner R. H., Batts K. P., Marotta P. J., LaRusso N. F., Porayko M. K., Hay J. E., Gores G. J., Charlton M. R., Ludwig J., Poterucha J. J., Steers J. L., Krom R. A. *Recurrence of primary sclerosing cholangitis following liver transplantation*. *Hepatology*. 1999;29(4):1050-6.

[46] Lemoine S., Pares A., Reig A., Ben Belkacem K., Kemgang Fankem A. D., Gaouar F., Poupon R., Housset C., Corpechot C., Chazouilleres O. *Primary sclerosing cholangitis response to the combination of fibrates with ursodeoxycholic acid: French-Spanish experience*. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2018;42(6):521-8.

[47] Williamson K. D., Chapman R. W. *Primary sclerosing cholangitis*. *Dig Dis*. 2014;32(4):438-45.

[48] Liu Jimmy Z, Hov Johannes Roksund, Folseraas Trine, Ellinghaus Eva, Rushbrook Simon M, Doncheva Nadezhda T, Andreassen Ole A, Weersma Rinse K, Weismüller Tobias J, Eksteen Bertus. *Dense genotyping of immune-related disease regions identifies nine new risk loci for primary sclerosing cholangitis*. *Nature genetics*. 2013;45(6):670-5.

## 5 Literaturverzeichnis

- [49] Bergquist A., Lindberg G., Saarinen S., Broome U. *Increased prevalence of primary sclerosing cholangitis among first-degree relatives*. J Hepatol. 2005;42(2):252-6.
- [50] Karlsen T. H., Franke A., Melum E., Kaser A., Hov J. R., Balschun T., Lie B. A., Bergquist A., Schramm C., Weismuller T. J., Gotthardt D., Rust C., Philipp E. E., Fritz T., Henckaerts L., Weersma R. K., Stokkers P., Ponsioen C. Y., Wijmenga C., Sterneck M., Nothnagel M., Hampe J., Teufel A., Runz H., Rosenstiel P., Stiehl A., Vermeire S., Beuers U., Manns M. P., Schrupf E., Boberg K. M., Schreiber S. *Genome-wide association analysis in primary sclerosing cholangitis*. Gastroenterology. 2010;138(3):1102-11.
- [51] Kaplan G. G., Laupland K. B., Butzner D., Urbanski S. J., Lee S. S. *The burden of large and small duct primary sclerosing cholangitis in adults and children: a population-based analysis*. Am J Gastroenterol. 2007;102(5):1042-9.
- [52] Terjung B., Spengler U. *Atypical p-ANCA in PSC and AIH: a hint toward a "leaky gut"?* Clin Rev Allergy Immunol. 2009;36(1):40-51.
- [53] Grant A. J., Lalor P. F., Salmi M., Jalkanen S., Adams D. H. *Homing of mucosal lymphocytes to the liver in the pathogenesis of hepatic complications of inflammatory bowel disease*. Lancet. 2002;359(9301):150-7.
- [54] Albillos A., de Gottardi A., Rescigno M. *The gut-liver axis in liver disease: Pathophysiological basis for therapy*. J Hepatol. 2020;72(3):558-77.
- [55] Aoyama T., Paik Y. H., Seki E. *Toll-like receptor signaling and liver fibrosis*. Gastroenterol Res Pract. 2010;2010.
- [56] Afford S. C., Humphreys E. H., Reid D. T., Russell C. L., Banz V. M., Oo Y., Vo T., Jenne C., Adams D. H., Eksteen B. *Vascular cell adhesion molecule 1 expression by biliary epithelium promotes persistence of inflammation by inhibiting effector T-cell apoptosis*. Hepatology. 2014;59(5):1932-43.
- [57] Cassiman D., Libbrecht L., Sinelli N., Desmet V., Denef C., Roskams T. *The vagal nerve stimulates activation of the hepatic progenitor cell compartment via muscarinic acetylcholine receptor type 3*. Am J Pathol. 2002;161(2):521-30.
- [58] Alvaro D., Alpini G., Jezequel A. M., Bassotti C., Francia C., Fraioli F., Romeo R., Marucci L., Le Sage G., Glaser S. S., Benedetti A. *Role and mechanisms of action of acetylcholine in the regulation of rat cholangiocyte secretory functions*. J Clin Invest. 1997;100(6):1349-62.

## 5 Literaturverzeichnis

- [59] Bachmann O., Reichelt D., Tuo B., Manns M. P., Seidler U. *Carbachol increases Na<sup>+</sup>-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> cotransport activity in murine colonic crypts in a M<sub>3</sub><sup>-</sup>, Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-, and PKC-dependent manner.* Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2006;291(4):G650-7.
- [60] Durchschein F., Krones E., Pollheimer M. J., Zollner G., Wagner M., Raufman J. P., Fickert P. *Genetic loss of the muscarinic M<sub>3</sub> receptor markedly alters bile formation and cholestatic liver injury in mice.* Hepatol Res. 2018;48(3):E68-e77.
- [61] Khan R. I., Yazawa T., Anisuzzaman A. S., Semba S., Ma Y., Uwada J., Hayashi H., Suzuki Y., Ikeuchi H., Uchino M., Maemoto A., Muramatsu I., Taniguchi T. *Activation of focal adhesion kinase via M<sub>1</sub> muscarinic acetylcholine receptor is required in restitution of intestinal barrier function after epithelial injury.* Biochim Biophys Acta. 2014;1842(4):635-45.
- [62] Dhawan S., Hiemstra I. H., Verseijden C., Hilbers F. W., Te Velde A. A., Willemsen L. E., Stap J., den Haan J. M., de Jonge W. J. *Cholinergic receptor activation on epithelia protects against cytokine-induced barrier dysfunction.* Acta Physiol (Oxf). 2015;213(4):846-59.
- [63] Zhang Y., Li J. *Carbachol ameliorates lipopolysaccharide-induced intestinal epithelial tight junction damage by down-regulating NF-kappaB and myosin light-chain kinase pathways.* Biochem Biophys Res Commun. 2012;428(2):321-6.
- [64] Belo A., Cheng K., Chahdi A., Shant J., Xie G., Khurana S., Raufman J. P. *Muscarinic receptor agonists stimulate human colon cancer cell migration and invasion.* Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2011;300(5):G749-60.
- [65] Cheng K., Samimi R., Xie G., Shant J., Drachenberg C., Wade M., Davis R. J., Nomikos G., Raufman J. P. *Acetylcholine release by human colon cancer cells mediates autocrine stimulation of cell proliferation.* Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2008;295(3):G591-7.
- [66] Gershwin M. E., Selmi C., Worman H. J., Gold E. B., Watnik M., Utts J., Lindor K. D., Kaplan M. M., Vierling J. M., Group Usa Pbc Epidemiology. *Risk factors and comorbidities in primary biliary cirrhosis: a controlled interview-based study of 1032 patients.* Hepatology. 2005;42(5):1194-202.
- [67] Tsuboi H., Ohira H., Asashima H., Tsuzuki S., Iizuka M., Matsuo N., Kondo Y., Matsumoto I., Sumida T. *Anti-M<sub>3</sub> muscarinic acetylcholine receptor antibodies in patients with primary biliary cirrhosis.* Hepatol Res. 2014;44(14):E471-9.
- [68] Berg C. P., Blume K., Lauber K., Gregor M., Berg P. A., Wesselborg S., Stein G. M. *Autoantibodies to muscarinic acetylcholine receptors found in patients with primary biliary cirrhosis.* BMC Gastroenterol. 2010;10:120.

## 5 Literaturverzeichnis

- [69] Preuss B., Tunaru S., Henes J., Offermanns S., Klein R. *A novel luminescence-based method for the detection of functionally active antibodies to muscarinic acetylcholine receptors of the M3 type (mAChR3) in patients' sera.* Clin Exp Immunol. 2014;177(1):179-89.
- [70] Sumida T., Tsuboi H., Iizuka M., Asashima H., Matsumoto I. *Anti-M3 muscarinic acetylcholine receptor antibodies in patients with Sjogren's syndrome.* Mod Rheumatol. 2013;23(5):841-5.
- [71] Garioud A., Seksik P., Chretien Y., Corphechot C., Poupon R., Poupon R. E., Chazouilleres O. *Characteristics and clinical course of primary sclerosing cholangitis in France: a prospective cohort study.* Eur J Gastroenterol Hepatol. 2010;22(7):842-7.
- [72] Saffioti F., Gurusamy K. S., Hawkins N., Toon C. D., Tsochatzis E., Davidson B. R., Thorburn D. *Pharmacological interventions for primary sclerosing cholangitis: an attempted network meta-analysis.* Cochrane Database Syst Rev. 2017;3:Cd011343.
- [73] Okolicsanyi L., Groppo M., Floreani A., Morselli-Labate A. M., Rusticali A. G., Battocchia A., Colombo M., Galatola G., Gasbarrini G., Podda M., Ricci G., Rosina F., Zuin M. *Treatment of primary sclerosing cholangitis with low-dose ursodeoxycholic acid: results of a retrospective Italian multicentre survey.* Dig Liver Dis. 2003;35(5):325-31.
- [74] Tabibian J. H., Bowlus C. L. *Primary sclerosing cholangitis: A review and update.* Liver Res. 2017;1(4):221-30.
- [75] Alabraba E., Nightingale P., Gunson B., Hubscher S., Olliff S., Mirza D., Neuberger J. *A re-evaluation of the risk factors for the recurrence of primary sclerosing cholangitis in liver allografts.* Liver Transpl. 2009;15(3):330-40.
- [76] Ueda Y., Kaido T., Okajima H., Hata K., Anazawa T., Yoshizawa A., Yagi S., Taura K., Masui T., Yamashiki N., Haga H., Nagao M., Marusawa H., Seno H., Uemoto S. *Long-term Prognosis and Recurrence of Primary Sclerosing Cholangitis After Liver Transplantation: A Single-Center Experience.* Transplant Direct. 2017;3(12):e334.
- [77] Feng Y. J., Zhang B. Y., Yao R. Y., Lu Y. *Muscarinic acetylcholine receptor M3 in proliferation and perineural invasion of cholangiocarcinoma cells.* Hepatobiliary Pancreat Dis Int. 2012;11(4):418-23.
- [78] Feng Y., Hu X., Liu G., Lu L., Zhao W., Shen F., Ma K., Sun C., Zhu C., Zhang B. *M3 muscarinic acetylcholine receptors regulate epithelial-mesenchymal transition, perineural invasion, and migration/metastasis in cholangiocarcinoma through the AKT pathway.* Cancer Cell Int. 2018;18:173.

## 5 Literaturverzeichnis

- [79] Xu B., Broome U., Ericzon B. G., Sumitran-Holgersson S. *High frequency of autoantibodies in patients with primary sclerosing cholangitis that bind biliary epithelial cells and induce expression of CD44 and production of interleukin 6.* Gut. 2002;51(1):120-7.
- [80] Uwada J., Yazawa T., Islam M. T., Khan M. R. I., Krug S. M., Fromm M., Karaki S. I., Suzuki Y., Kuwahara A., Yoshiki H., Sada K., Muramatsu I., Taniguchi T. *Activation of muscarinic receptors prevents TNF-alpha-mediated intestinal epithelial barrier disruption through p38 MAPK.* Cell Signal. 2017;35:188-96.
- [81] Khan M. R., Uwada J., Yazawa T., Islam M. T., Krug S. M., Fromm M., Karaki S., Suzuki Y., Kuwahara A., Yoshiki H., Sada K., Muramatsu I., Anisuzzaman A. S., Taniguchi T. *Activation of muscarinic cholinergic receptor ameliorates tumor necrosis factor-alpha-induced barrier dysfunction in intestinal epithelial cells.* FEBS Lett. 2015;589(23):3640-7.
- [82] Greverath L. M., Leicht E., Wald de Chamorro N., Wilde A. B., Steinhagen L. M., Lieb C., Schmelzle M., Chopra S., Shibolet O., Fischer J., Berg T., Tacke F., Muller T. *Evaluation of muscarinic acetylcholine receptor type 3 gene polymorphisms in patients with primary biliary cholangitis and primary sclerosing cholangitis.* Hepatol Res. 2019.
- [83] Wald De Chamorro N., Pohlen L. M., Greverath L. M., Leicht E., Wilde A. B., Berg T., Preuss B., Klein R., Tacke F., Mueller T. *Evaluation of inhibitory anti-M3 muscarinic acetylcholine receptor antibodies in patients with primary biliary cholangitis - a large cohort from independent tertiary centers in Germany.* Hepatology. 2019;70:771A.
- [84] Dyson J. K., Beuers U., Jones D. E. J., Lohse A. W., Hudson M. *Primary sclerosing cholangitis.* Lancet. 2018;391(10139):2547-59.
- [85] Tanaka A., Leung P. S. C., Gershwin M. E. *Evolution of our understanding of PBC.* Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2018;34-35:3-9.
- [86] Gulamhusein A. F., Hirschfield G. M. *Pathophysiology of primary biliary cholangitis.* Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2018;34-35:17-25.
- [87] Hov J. R., Boberg K. M., Taraldsrud E., Vesterhus M., Boyadzhieva M., Solberg I. C., Schrumpf E., Vatn M. H., Lie B. A., Molberg O., Karlsen T. H. *Antineutrophil antibodies define clinical and genetic subgroups in primary sclerosing cholangitis.* Liver Int. 2017;37(3):458-65.
- [88] Gershwin M. E., Selmi C., Worman H. J., Gold E. B., Watnik M., Utts J., Lindor K. D., Kaplan M. M., Vierling J. M. *Risk factors and comorbidities in primary biliary cirrhosis: a controlled interview-based study of 1032 patients.* Hepatology. 2005;42(5):1194-202.
- [89] Navaneethan U. *Hepatobiliary manifestations of ulcerative colitis: an example of gut-liver crosstalk.* Gastroenterol Rep (Oxf). 2014;2(3):193-200.

## 5 Literaturverzeichnis

[90] Mattner J. *Impact of Microbes on the Pathogenesis of Primary Biliary Cirrhosis (PBC) and Primary Sclerosing Cholangitis (PSC)*. Int J Mol Sci. 2016;17(11).

[91] Razumilava N., Gores G. J. *Cholangiocarcinoma*. Lancet. 2014;383(9935):2168-79.

## 6 Eidesstattliche Versicherung

### **6 Eidesstattliche Versicherung**

„Ich, Lara Marleen Steinhagen, geborene Pohlan, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Untersuchung zur Prävalenz und Bedeutung spezifischer inhibitorischer Auto-Antikörper gegen muskarinerge Acetylcholinrezeptoren vom Typ 3 bei PatientInnen mit primär sklerosierender Cholangitis – eine retrospektive Monocenterstudie am Interdisziplinären Leberzentrum der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow Klinikum“ (Prevalence and significance of inhibitory auto antibodies against muscarinic acetylcholine receptors type 3 in primary sclerosing cholangitis – a retrospective monocenter study at the interdisciplinary liver center of Charité University Medicine, Campus Virchow Clinic) selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der

## 6 Eidesstattliche Versicherung

Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichtet.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

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

Datum \_\_\_\_\_ Unterschrift: \_\_\_\_\_

## 7 Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

### **7 Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen**

Lara Marleen Steinhagen hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Publikation: Greverath L. M., Leicht E., Wald de Chamorro N., Wilde A. B., **Steinhagen L. M.**, Lieb C., Schmelzle M., Chopra S., Shibolet O., Fischer J., Berg T., Tacke F., Muller T. Evaluation of muscarinic acetylcholine receptor type 3 gene polymorphisms in patients with primary biliary cholangitis and primary sclerosing cholangitis, Hepatology Research, 2019.

Beitrag im Einzelnen: Die in der o.g. Publikation veröffentlichten Daten der PSC Kohorte sind auf Basis meiner Datenerhebung und statistischen Berechnungen entstanden. Aus u.a. meiner statistischen Auswertung ist die Tabelle 1 entstanden. Im Rahmen der Co-Autorschaft habe ich zudem zur Interpretation der gesamten Daten beigetragen. Das Manuskript wurde von allen Co-Autoren Korrektur gelesen.

---

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers

---

Unterschrift der Doktorandin

8 Lebenslauf

## **8 Lebenslauf**

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

## 9 Publikationsliste

### 9 Publikationsliste

Publikation 1: Greverath L. M., Leicht E., Wald de Chamorro N., Wilde A. B., **Steinhagen L. M.**, Lieb C., Schmelzle M., Chopra S., Shibolet O., Fischer J., Berg T., Tacke F., Muller T. Evaluation of muscarinic acetylcholine receptor type 3 gene polymorphisms in patients with primary biliary cholangitis and primary sclerosing cholangitis, Hepatology Research, 2019.

Publikation 2: Wald De Chamorro N., **Pohlan L. M.**, Greverath L. M., Leicht E., Wilde A. B., Berg T., Preuss B., Klein R., Tacke F., Mueller T. Evaluation of inhibitory anti-M3 muscarinic acetylcholine receptor antibodies in patients with primary biliary cholangitis - a large cohort from independant tertiary centers in Germany, Hepatology, 2019.

Publikation 3: Lena Maria Greverath, Elise Leicht, Nina Wald de Chamorro, Anne-Christin Beatrice Wilde, **Lara Marleen Steinhagen**, Charlotte, Lieb, Moritz Schmelzle, Sascha Chopra, Oren Shibolet, Janett Fischer, Thomas Berg, Frank Tacke, Tobias Müller, Evaluation Of Inhibitory Anti-M3 Muscarinic Acetylcholine Receptor Antibodies In Patients With Primary Biliary Cholangitis – A Large Cohort From Two Independent Tertiary Centers In Germany“, Hepatology, 2019.

Anmerkung: Es handelt sich um einen Beitrag zur Postersession (Poster of Distinction) anlässlich der Jahrestagung der AASLD 2019.

Publikation 4: B Preuss, **LM Pohlan**, N Wald de Chamorro, T Müller, ACB Wilde, R Klein, T Berg, E Leicht, F Tacke, LM Greverath, Prävalenz und Bedeutung inhibitorischer Auto-Antikörper gegen muskarinerge Acetylcholinrezeptoren vom Typ 3 bei Patienten mit primär biliärer Cholangitis – eine retrospektive Studie aus zwei universitären Zentren aus Berlin und Leipzig, Zeitschrift für Gastroenterologie, 2019:

Anmerkung: Es handelt sich um einen Kurzvortrag anlässlich der Jahrestagung der DGVS 2019.

## 9 Publikationsliste

Publikation 5: LM Greverath, E Leicht, N Wald de Chamorro, ACB Wilde, **LM Pohlen**, D Paclik, J Fischer, T Berg, F Tacke, T Müller, Assoziation des rs4620530 Single Nucleotide Polymorphismus im muskarinergen Acetylcholinrezeptor Typ 3 Gen mit der primär biliären Cholangitis – eine retrospektive Analyse aus zwei universitären Zentren, Zeitschrift für Gastroenterologie, 2019.

## 10 Danksagungen

### **10 Danksagungen**

Hiermit möchte ich mich herzlich bei allen, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation unterstützt haben, bedanken.

Zunächst gebührt der Dank meinem Doktorvater Herrn PD Dr. med. Tobias Müller, dem leitenden Oberarzt der medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité, Campus Virchow Klinikum in Berlin für die umfassende Betreuung meiner Promotion, die Expertise und konstruktive Kritik.

An dieser Stelle danke ich ebenso Herrn Universitätsprofessor Dr. med. Frank Tacke und Herrn Universitätsprofessor Dr. med. Bertram Wiedenmann für die Überlassung des Themas.

Des Weiteren gilt meinen Mitdoktorandinnen Elise Leicht und Nina Wald de Chamorro Dank für die gegenseitige Unterstützung und den Austausch.

Zu guter Letzt danke ich von ganzen Herzen meinem Ehemann und meiner Familie für die vielen motivierenden Gespräche und die immerwährende Unterstützung.