

3 Material und Methode

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Studie. Grundlage der Analyse bilden die im Zeitraum vom 18.04.1986 bis zum 25.02.2004 am Deutschen Herzzentrum Berlin (DHZB) durchgeführten 1381 orthotopen Herztransplantationen.

3.1 Charakterisierung des untersuchten Materials

In der vorliegenden Arbeit wurden Daten von 1381 Patienten, die sich vom 18.04.1986 bis zum 25.02.2004 am DHZB einer orthotopen Herztransplantation unterzogen haben, bearbeitet. Die Patientendaten sind einer, durch die Studienabteilung des DHZB, erstellten Liste entnommen. Bei 36 der aufgeführten HTx handelte es sich um Patienten, die sich einer Re-HTx unterziehen mussten.

Bei 1100 Patienten wurden nach HTx Myokardbiopsien entnommen. Insgesamt lagen von diesen Patienten 15.603 Myokardbiopsien vor.

Zur Verfügung stehende Parameter:

1. *Stammdaten der Patienten:*

PIN zur Patientenidentifikation

Name

Geschlecht

Geburtsdatum

Todesdatum (falls eingetreten)

Datum der HTx

Transplantationsindikation

Angabe über Re-HTx

Alter des implantierten Spenderherz

Geschlecht des implantierten Spenderherzens

2. Stammdaten der Spender:

- Name
- Geschlecht
- Geburtsdatum
- Alter bei Tod
- Datum der Organentnahme
- Todesursache

3. Biopsie-Daten:

- PIN
- Name
- Geschlecht des Patienten
- Geburtsdatum des Patienten
- Todesdatum des Patienten
- Datum der HTx
- Geschlecht des Spenders
- Datum der Biopsieentnahme
- Abstoßung
- Endothelveränderungen
- Wandveränderungen
- Quilty-Effekt

3.2 Endomyokardbiopsien (EMB)

Die Entnahme der EMB wurde im Herzkatheterlabor des DHZB durchgeführt. Die rechtsventrikuläre Biopsieentnahme erfolgte durch perkutane transvenöse Einführung des Biotoms über die V. jugularis interna oder alternativ über die V.subclavia oder die V.femoralis. Die gewonnenen Proben wurden in 4% gepufferter Formalinlösung fixiert, in Paraffin eingebettet und Serienschnitte vom 3 µm angefertigt. In der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 15.603 EMB analysiert.

Histologische Begutachtung

Die histologische Begutachtung der EMB wurde von Herrn Prof. Dr. med. R. Meyer, Leiter des Arbeitsbereiches Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin, vorgenommen. Die Beurteilung des Schweregrades der Rejektion erfolgt nach der modifizierten Klassifikation der International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT).

Tabelle 1: Klassifikation der Abstoßungsgrade nach International Society for Heart and Lung Transplantation

Grad	Definition
0	Es finden sich keine Anzeichen der akuten Rejektion oder von Schäden an den Myozyten. „0“ ebenso bei zweifelhaften Rejektionen.
01 A*	Sie ist definiert als minimale beginnende Rejektion, die von perivasalen und/oder interstitiellen Lymphozyteninfiltrationen begleitet wird.
1A	Es bestehen fokale, perivaskuläre oder interstitielle Lymphozyteninfiltrate ohne Myokardbeteiligung. Es sollten eine oder mehrere Biopsien betroffen sein.
1B	Hier beobachtete man ein diffuseres perivaskuläres oder interstitielles Infiltrat, sonst wie 1A.
2	Das Entzündungsinfiltrat (Lymphozyten mit oder ohne Eosinophile) bildet einen scharf begrenzten Fokus, innerhalb welchem man architektonische Störungen bzw. Myozytenläsionen vorfindet.
3A	Es finden sich multifokale Entzündungsinfiltrate bestehend aus Lymphozyten und Eosinophilen. Es sollte eine oder mehrere Biopsien betroffen sein.
3B	Der inflammatorische Prozess betrifft mehrere Biopsien. Man beobachtet Myozytenschäden, ein aggressives Infiltrat aus Lymphozyten, Eosinophilen und eventl. Neutrophilen. Hämorrhagien sind normalerweise nicht vorhanden.
4	Es besteht ein polymorphes Entzündungsinfiltrat aus Lymphozyten, Eosinophilen und Neutrophilen verbunden mit Nekrosen und Schäden an den Myozyten. Ebenso beobachtet man Ödeme, Hämorrhagien und Vaskulitiden. Mitunter sind diese prominenter als das zelluläre Infiltrat, wenn die Patienten einer aggressiven und immunsuppressiven Therapie unterzogen werden.

* Dieser Abstoßungsgrad wird in der ISHLT nicht aufgeführt und wurde von Herrn Prof. Dr. med. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin ergänzt.

Neben der nach der oben beschriebenen Klassifikation der Rejektionen nach der ISHLT wurde das histologische Material auf den erstmals 1981 von Billingham beschriebenen Quilty-Effekt (23) untersucht. Dabei handelte sich um ein endokardiales Infiltrat, welches durch das Übergreifen auf das Myokard graduiert werden kann (0= keine Quilty-Effekt, 1= Quilty-Effekt ohne Myokardbeteiligung, 2= Quilty-Effekt mit Myokardbeteiligung).

Des weiteren erfolgte eine Beurteilung der Biopsien anhand einer durch die Arbeitsgruppe Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin entwickelte Klassifikation der vaskulären Reaktion.

Tabelle 2: Klassifikation der vaskulären Reaktion (nach Prof. Dr. med. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie, Deutsches Herzzentrum Berlin)

Grad	Endothelschwellung	Wandverdickung
0	Endothelzellen unauffällig	Wand nicht verdickt, keine Proliferation
1	Endothelzellen gering geschwollen	Wand geringfügig verdickt durch Proliferation
2	Endothelzellen stark geschwollen	Wand stark verdickt durch Proliferation

Die letzten beiden aufgeführten Klassifikationen wurden in der vorliegenden Arbeit nicht herangezogen.

3.3 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS für Windows Version 13.

Nach deskriptiver Analyse mit Berechnung der Mittelwerte wurde die Berechnung der kumulativen Survival-Funktion $S(t)$ in Form der Hazard-Funktion $h(t)$ sowie die Prüfung der Signifikanz bei nicht voneinander unabhängigen Prädiktoren mittels der multivariaten Cox-Regressionsanalyse durchgeführt. Ein signifikanter Einfluss auf das Überleben nach Herztransplantation lag vor bei $p < 0,05$.

Im Anschluss wurde mit Hilfe der vorliegenden Biopsien durch die multivariaten Cox-Regressionsanalyse überprüft, ob ein signifikanter Zusammenhang zwischen den einzelnen Faktoren (Alter des Patienten bei HTx, Alter des Spenders, Geschlecht des Patienten, Geschlecht des Spenders, zur Transplantation führende Grunderkrankung) und dem Auftreten einer histologisch nachweisbaren Rejektion nach der ISHLT-Klassifikation besteht. Ein signifikanter Einfluss auf das Auftreten einer Rejektion lag ebenfalls bei einer $p < 0,05$ vor.

Eine Definition und erklärende Erläuterungen zur multivariaten Cox-Regressionsanalyse folgen im Kapitel 4.2 .