

3 Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv

Zwischen März 1989 und Dezember 2002 wurden an der chirurgischen Klinik der Charité, Campus Virchow Klinikum Berlin, 1521 orthotope Lebertransplantationen (oLT) durchgeführt.

Indikationen	n	%
ALD (Alcoholic Liver Disease)	274	18,0
HCV (Hepatitis C Virus)	186	12,2
HBV (Hepatitis B Virus)	175	11,5
HCC (Hepatozelluläres Karzinom)	161	10,6
PBC (Primär biliäre Zirrhose)	101	6,6
Akutes Leberversagen	88	5,8
Kryptogene Zirrhose	86	5,7
PSC (Primär sklerosierende Cholangitis)	72	4,7
Autoimmun-Hepatitis	54	3,6
Gallengangskarzinom	29	1,9
Budd-Chiari	25	1,7
M. Wilson	19	1,2
Hepatitis C + Hepatitis B	14	0,9
Hämochromatose	12	0,8
andere	225	14,8
Σ	1521	100,0

Tabelle 1: Indikationen zur Lebertransplantation bei 1521 Transplantationen

Unter diesen Patienten befanden sich 274 (18%) mit der Transplantationsindikation ALD. Diese stellte vor der Hepatitis-C-Infektion mit 12,2% die häufigste Indikation zur Lebertransplantation dar.

In dieser Arbeit wurden die Daten von insgesamt 308 Patienten mit alkoholischer Lebererkrankung analysiert. 271 dieser Patienten hatten die Hauptindikation alkoholtoxische Leberzirrhose. 34 Patienten hatten zusätzlich ein hepatozelluläres Karzinom und wurden deshalb gesondert betrachtet um die Ergebnisse nicht zu verfälschen. 3 Patienten konnten die Einschlusskriterien aus anderen Gründen nicht erfüllen. Untersucht wurden Daten zu allen eingeschlossenen Patienten mit alkoholischer Lebererkrankung, die im oben genannten Zeitraum im Virchow-Klinikum transplantiert wurden und von denen Histologien der Leber zur Verfügung standen. Das mittlere Alter betrug zum Zeitpunkt der Transplantation $48,9 \pm$

8,3 Jahre, der jüngste Patient war 27, der älteste 67 Jahre alt. Das mittlere Spenderalter lag bei $41 \pm 16,5$ Jahren bei einer Altersspanne von 3,2 bis 80,2 Jahren.

Das operative Vorgehen orientierte sich an den gängigen Standards [59]. Die kalten Ischämiezeiten lagen zwischen 53 Minuten und 26,75 Stunden bei einer mittleren Ischämiezeit von $9,52 \pm 3,9$ h. Bei dem größten Teil der Patienten ($n=248$, 91,5%) wurde die Gallengangsanastomose in Seit-zu-Seit-Technik mit T-Drain durchgeführt [60]. Auch das postoperative intensivmedizinische Management wurde gemäß den gängigen Standards vorgenommen.

Die immunsuppressive Therapie in der untersuchten Patientengruppe war den zeitlichen Gegebenheiten, sowie den gängigen Behandlungsprotokollen angepasst. So wurden in der Anfangszeit der Lebertransplantationen Quadruple-Therapien durchgeführt. Diese bestanden aus einer 5-tägigen Induktionstherapie mit Anti-Lymphozyten-Globulin (ALG), bzw. Anti-Thymozyten-Globulin (ATG) oder dem Interleukin 2- Rezeptor-Antagonisten BT563 (Zenapax® und Simulect®). Kombiniert mit einer langfristigen Gabe von Cyclosporin A (Sandimmun®) oder FK 506 (Tacrolimus, Prograf®) als Basisimmuntherapie zusammen mit Azathioprin (Immurek®) und Methylprednisolon. Bis zur Zulassung von FK 506 (Tacrolimus) im Jahre 1994 stellte Cyclosporin A das Basis-Immunsuppressivum für alle Patienten dar, die nicht FK 506 (Tacrolimus) im Rahmen einer Studie bekamen [7]. Postoperativ erhielten alle Patienten 2-mal täglich Cyclosporin A (4mg/kg KG) oder Tacrolimus (0,5mg/kg KG, ab dem 3.Tag 0,1mg/kg KG). Weiterführende Dosierungen wurden den angestrebten Serumspiegeln angepasst. Bei Unverträglichkeiten gegen eines der verwendeten Immunsuppressiva wurde die Therapie entsprechend auf das andere umgestellt. Von den 271 beobachteten Patienten bekamen 111 (41%) Cyclosporin A (Sandimmun®) und 160 (59%) FK 506 (Tacrolimus, Prograf®) als primäre Immunsuppression. Methylprednisolon (Urbason®) wurde als intravenöse Bolusinjektion in einer Dosierung von 500mg vor und 6 Stunden nach Reperfusion verabreicht. Anschließend erhielten alle Patienten ab dem 1. postoperativen Tag 20mg Methylprednisolon (Urbason®)/Tag, welches im Verlauf der ersten 4 postoperativen Wochen auf 15mg/Tag reduziert wurde. Nach fortlaufender Dosisreduktion in 5mg-Schritten, angepasst an die Transplantatfunktion, dem klinischen Eindruck und nach Ausschluss von Rejektionsepisoden, wurde die Steroidtherapie nach 3 Monaten ausgeschlichen.

Die Diagnose einer akuten Abstoßung wurde anhand klinischer, laborchemischer und histologischer Kriterien gestellt. Bei klinischem Verdacht auf eine akute

Transplantatabstoßung (Fieber, Anstieg der Transaminasen und/oder Cholestaseparameter, Veränderung der Gallefarbe, Abnahme der Galleproduktion) wurde zur histologischen Diagnosesicherung eine Leberblindpunktion durchgeführt. Bestätigte sich der Verdacht auf eine akute Abstoßungsreaktion, bestand die Therapie in der Regel in der i.v.-Applikation von je 500 mg Methylprednisolon (Urbason®) an drei (oder mehr) aufeinander folgenden Tagen (Urbasonstoßtherapie). Bei fehlendem Abfall oder bei weiterem Anstieg der Laborparameter, d.h. mangelndem Ansprechen der Therapie (Steroidresistenz) wurde die Basis(Erhaltungs-) Immunsuppression erhöht oder für einige Tage eine Therapie mit einem monoklonalen Antikörper (OKT3) eingeleitet. In OKT3-refraktären Fällen wurde eine Tacrolimus-Rescue-Therapie durchgeführt [61] bzw. bei Intoleranz gegenüber Tacrolimus eine Behandlung mit Mycophenolatmofetil (MMF) angestrebt.

Als akute Abstoßungsreaktion wurden in dieser Arbeit nur solche Ereignisse gewertet, bei denen sowohl die klinische, als auch die histopathologische Diagnose in diesem Sinne übereinstimmten.

3.2 Evaluierung

Vor der Indikationsstellung zur Lebertransplantation und zum Ausschluss von Kontraindikationen, wurden alle Patienten umfangreichen Untersuchungen im Rahmen eines mehrtägigen stationären Aufenthalts unterzogen. Dazu gehörten internistische (v.a. kardiologische), neurologische, anästhesiologische, bei Frauen gynäkologische, sowie HNO-, zahnärztliche und psychosomatische Konsile. Auch Standard-Untersuchungen wie Röntgen-Thorax, CT des Abdomens, Sonographie des Abdomens mit Duplex-Sonographie der Abdominal- und Lebergefäße, Angiographie der Lebergefäße, Lungenfunktionsdiagnostik, Ösophago-Gastro-Duodenoskopie, Koloskopie, Knochendichtebestimmung und bei Bedarf eine Kernspintomographie des Abdomens wurden durchgeführt. Des Weiteren wurden die Patienten umfangreichen Laboruntersuchungen inklusive HLA-Typisierung unterzogen. Besonderen Wert wurde bei den Patienten mit äthyltoxischer Leberzirrhose zur Indikationsstellung dem psychosomatischen Konsil beigemessen. Durch längere diagnostische Gespräche wurde versucht, eine Einschätzung bezüglich der zu erwartenden Compliance und Rückfallgefahr, sowie einen Überblick über den Zeitraum der Alkoholabstinenz zu gewinnen. Eine Abstinenz von weniger als 6 Monaten galt hierbei als Kontraindikation für die Transplantation. Des Weiteren wurde vorausgesetzt, dass der Patient seine Alkoholkrankheit realisiert und aktiv etwas dagegen unternimmt, einer regelmäßigen

Arbeit nachgeht, sich in einer stabilen Partnerschaft befindet und/oder ein stabiles soziales Umfeld hat.

3.3 Nachbeobachtung

Alle Patienten wurden nach der Transplantation und dem anschließenden stationären Aufenthalt im Virchow-Klinikum ambulant weiterbehandelt. In den meisten Fällen erfolgten engmaschige klinische und laborchemische Kontrollen in Zusammenarbeit mit der Transplantationsambulanz des Virchow-Klinikums. Größere Kontrolluntersuchungen fanden 3, 6, 9 und 12 Monate nach der Transplantation und im weiteren Verlauf jährlich in der Transplantationsambulanz statt. Standardevaluationen schlossen körperliche Untersuchung, Überprüfungen der Leberfunktion durch die Parameter Aspartat-Aminotransferase (AST), Alanin-Aminotransferase (ALT), γ -Glutamyl-Transferase (γ GT), Bilirubin, Prothrombinzeit (pTT) sowie - wenn nötig- serologische virale Diagnostik ein. Leberbiopsien wurden routinemäßig an Tag 0 (vor Perfusion und nach Perfusion), anschließend routinemäßig 1, 3, 5, 7, 10 sowie 13 Jahre nach Transplantation und zusätzlich wenn klinisch indiziert durchgeführt. In mehr als der Hälfte der Fälle (n=161; 59,4%) wurde die explantierte Leber zur Diagnosesicherung histologisch untersucht.

3.4 Erfassung eines postoperativen Alkoholabusus

Gute postoperative Compliance wurde angenommen, wenn der Patient verlässlich in Bezug auf Medikamenteneinnahme, regelmäßigen Kontakt zur Transplantationsambulanz und Alkoholabstinenz war.

Allen Patienten wurde nach der Transplantation geraten weiterhin auf Alkohol zu verzichten, auf ein Screening hinsichtlich des möglichen postoperativen Alkoholabusus/-konsums wurde jedoch verzichtet. Zum Vergleich der histologischen Verläufe wurden die Patienten in zwei Gruppen eingeteilt: in die Rezidivgruppe wurden Patienten eingeschlossen, deren Rückfall zum Alkoholabusus durch glaubhafte eigene Angaben des Patienten, Familienangehöriger oder Hausärzte zu mindestens einem Zeitpunkt verifiziert werden konnte. Wenn diese Angaben nicht vorlagen, jedoch der Verdacht eines Rezidivs der Grunderkrankung durch z.B. unklare γ -GT- oder Transaminasenanstiege bei den behandelnden Ärzten aufkam, wurden ggf. weitere Leberbiopsien durchgeführt. Hierbei wurden alkoholtypische histologische Veränderungen wie starke, anderweitig nicht erklärbare Verfettung oder

Fibrosierung sowie das Auftreten von Mallory-Hyalin als Kriterien zum Einschluss in die Rezidivgruppe angesehen.

3.5 Histologische Beurteilung

Die 5- bis 30-mm langen Gewebeproben der Leber wurden unter Ultraschallkontrolle durch eine perkutane Biopsie gewonnen. Die Biopsien wurden zunächst in Formalinlösung fixiert, danach in Paraffin eingebettet und mit konventionellen Färbemethoden gefärbt. Wenn indiziert, wurde außerdem eine Immunfärbung auf virale Antigene durchgeführt. Histologisch befundet wurden die Gewebeproben im Institut für Pathologie der Charité, Campus Virchow Klinikum. Dies geschah im Rahmen der klinischen Routine. Die befundeten Histologien wurden von uns anhand eines selbsterstellten Fragebogens beurteilt in Hinblick auf:

Akute Rejektion, Einzelzellnekrosen, Fibrose (Grad), portale Entzündung, Steatosis (Grad bzw. % Verfettung), Duktopenie, Eisenablagerung. In einigen Berechnungen wurde der Fibrosegrad zusammengefasst in keine bis leichte Fibrose (keine Fibrosierung bis geringe/wenig Septenbildung) und schwere Fibrose (viel Septenbildung mit und ohne Zirrhose). Auch die Verfettung wurde in einigen Berechnungen wie folgt zusammengefasst: keine bis leichte Verfettung (0-60% Steatosis) und schwere Verfettung (61-100% Steatosis).

Histologische Kriterien der Beurteilung		
Akute Rejektion	ja/nein	
Einzelzellnekrosen	ja/nein	
Fibrosierung	Grad 0	keine Fibrosierung
	Grad 1	portale Fibrosierung ohne Septenbildung
	Grad 2	wenig (geringe) Septenbildung
	Grad 3	viel (hohe) Septenbildung ohne Zirrhose
	Grad 4	Leberzirrhose (kompletter Parenchymbau)
Portale Entzündung	ja/nein	
Steatosis	Grad 0	keine Steatosis
	Grad 1	1-20% Steatosis
	Grad 2	21-40% Steatosis
	Grad 3	41-60% Steatosis
	Grad 4	61-80% Steatosis
	Grad 5	81-100% Steatosis
Duktopenie	ja/nein	
Eiseneinlagerungen	ja/nein	

Tabelle 2: Histologische Kriterien der Beurteilung

3.6 Statistische Auswertung

Die Daten der Patienten wurden aus den Krankenakten der Transplantationsambulanz, den Transplantationsarchiven der Ambulanz und dem Datenverwaltungsprogramm (PROTON) gewonnen. Datenmanagement und statistische Analysen wurden mit Hilfe des SPSS – Programms, Version 12.0 (Statistical Package for the Social Science, SPSS Inc., USA) durchgeführt. Stichproben wurden mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung überprüft. Der Zusammenhang zweier qualitativer Größen wurde mit Hilfe des Chi-Quadrat- (χ^2) Tests nach Pearson auf Unabhängigkeit überprüft. Überlebenswahrscheinlichkeiten wurden nach Kaplan-Meier berechnet, Vergleiche zwischen Kaplan-Meier-Kurven geschahen mittels Log-Rank-Test. Zur Überprüfung des Effektes mehrerer Einflussgrößen auf eine Zielvariable wurde die Cox-Regression benutzt. Das Überleben der Patienten wurde definiert als die Zeit zwischen Transplantation und zensiertem Zeitpunkt (letztes Datum an dem der Patient am Leben war) oder dem Tod des Patienten. Die Daten werden präsentiert als Absolutwerte oder Mittelwerte \pm Standardabweichung, sofern nicht anders angegeben. Ein p-Wert $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant betrachtet. Die folgenden unabhängigen Variablen wurden analysiert: akute Rejektionsepisoden, Spender- und Empfängeralter, Spender- und Empfängergeschlecht, kalte Ischämiezeiten, primäre Immunsuppression, sowie die in 3.7 beschriebenen histologischen Kriterien.