

Aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Die klinische Bedeutung von Biomarkern des Zelltodes und der Inflammation bei
Patienten mit Leberzirrhose und hepatorenalem Syndrom

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Thomas Austgen
aus Speyer

Mainz, 2020

Wissenschaftlicher Vorstand:

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Tag der Promotion: 06.07.2021

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	6
Bildverzeichnis	8
Tabellenverzeichnis.....	9
1. Einleitung.....	11
2. Literaturdiskussion	13
2.1. Leberzirrhose	13
2.1.1. Schweregradeinteilung nach Child-Pugh-Score.....	15
2.1.2. MELD-Score.....	16
2.2. Komplikationen der Leberzirrhose	17
2.2.1. Portale Hypertension.....	17
2.2.2. Varizen	18
2.2.3. Aszites.....	19
2.2.4. Hepatopulmonales Syndrom	21
2.2.5. Hepatische Enzephalopathie.....	22
2.2.6. Hepatorenales Syndrom.....	23
2.3. Apoptose.....	31
2.3.1. Zytokeratin 18	34
2.3.2. Tissue polypeptide-specific antigen (TPS)	35
2.3.3. Einsatz von M30 und M65 in aktuellen Studien.....	35
3. Material und Methoden.....	40
3.1. Patienten.....	40
3.2. Klinische Parameter.....	41
3.3. Probenvorbereitung	43
3.4. M30.....	43
3.5. M65.....	43
3.6. Probenanalyse (ELISA)	44
3.7. Statistische Auswertung.....	47
4. Ergebnisse	48
4.1. Patientencharakteristika der beiden Kollektive HRS und non HRS	48
4.1.1. Ätiologische und biografische Daten der Patientenkollektive	48
4.1.2. Labormedizinische Parameter der Kollektive	49
4.1.3. M30 zu Beginn der HRS-Episode/Aufnahme der Kontrollgruppe	50
4.1.4. M65 zu Beginn der HRS-Episode/Aufnahme der Kontrollgruppe.....	50
4.2. Korrelation M30/M65 mit klinisch-laborchemischen Entzündungsparametern	51

4.2.1. Streudiagramm der Leukozytenkonzentration bei Aufnahme in Abhängigkeit zur M30-Konzentration	51
4.2.2. Streudiagramm der CRP-Konzentration bei Aufnahme in Abhängigkeit zur M30-Konzentration	52
4.2.3. Streudiagramm der Leukozytenkonzentration bei Aufnahme in Abhängigkeit zur M65-Konzentration	53
4.2.4. Streudiagramm der CRP-Konzentration bei Aufnahme in Abhängigkeit zur M65-Konzentration	54
4.3. Terlipressinbehandlung innerhalb der HRS-Kohorte	55
4.3.1. Vergleich Kreatininkonzentration von Aufnahme und Terlipressinstart ...	55
4.3.2. Vergleich der Kreatininkonzentrationen zu Terlipressinstart und -ende ...	57
4.3.3. Vergleich der Harnstoffkonzentration zu Terlipressinstart und -ende	59
4.3.4. MELD-Score bei Terlipressinstart und Entlassung	59
4.3.5. Verteilung der Therapielänge innerhalb der HRS-Kohorte	60
4.3.6. Darstellung des Ansprechens innerhalb der HRS-Kohorte	60
4.4. Univariate Analyse in Bezug auf das Terlipressinansprechen	64
4.5. Univariate Analyse in Bezug auf die M30/M65 hoch und niedrig Klassifizierung	65
4.6. Univariate Analyse in Bezug auf überlebende/verstorbene Patienten	68
4.7. Outcome nach Terlipressinbehandlung innerhalb der HRS-Kohorte	69
4.7.1. Therapieansprechen vs. Nichtansprechen	70
4.7.2. M30 hoch vs. niedrig	72
4.7.3. M65 hoch vs. niedrig	74
4.7.4. MELD hoch vs. MELD niedrig	75
4.7.5. LTX-Kandidat vs. kein LTX-Kandidat	80
4.7.6. Florider vs. Nicht-florider Alkoholkonsum	82
4.7.7. Hämodialyse	84
5. Diskussion	85
5.1. Kritische Beurteilung des Vergleichs der beiden Kohorten	85
5.2. Laborchemische Parameter der HRS-Kohorte sowie deren Therapieansprechen	88
5.3. Faktoren, die im Zusammenhang mit dem Gesamtüberleben stehen	92
5.4. Faktoren, die im Zusammenhang mit dem LTX-/RRT freien Überleben stehen	96
5.5. Fehlerdiskussion	97
6. Zusammenfassung	98
Quellenverzeichnis	100
Danksagung	entfernt

Lebenslauf.....entfernt

Abkürzungsverzeichnis

ACLF: Acute on chronic liver failure

AFP: alpha Fetoprotein

AKI: Acute kidney injury

ALI: Acute liver injury

AP: alkalische Phosphatase

CI: Konfidenzintervall

CO: Kohlenstoffmonoxid

CTP: Child-Turcotte-Pugh

DNA: Desoxyribonukleinsäure

DR: Deathreceptor

EASL: European Association for the Study of the Liver

Gamma-GT: Gamma-Glutamyltransferase

GLDH: Glutamatdehydrogenase

GOT: Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (Auch bekannt als AST)

GPT: Glutamat-Pyruvat-Transaminase (auch bekannt als ALT)

GFR: Glomeruläre Filtrationsrate

HD: Hämodialyse

HRS: hepatorenales Syndrom

IL-6: Interleukin 6

INR: International normalized Ratio

i.S.: im Serum

LAP: Leucinaminopeptidase

LTx: Lebertransplantation

MAP: Mittlerer arterieller Druck

NAFLD: non- alcoholic fatty liver disease

NASH: non-alcoholic Steatohepatitis

NO: Stickstoffmonoxid

PBC: primär biliäre Cholangitis

PSC: primär sklerosierende Cholangitis

Quick: Thromboplastinzeit

RAAS: Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

RCT: randomized controlled Trial

RRT: Nierenersatzverfahren

SIRS: Systemic Inflammatory Response Syndrome

TIPS: transjugulärer intrahepatischer portosystemischer Shunt

TNF: Tumornekrosefaktor

TNF-R1: Tumornekrosefaktor- Rezeptor 1

Bildverzeichnis

Abbildung 1 Häufigsten Ursachen von neu diagnostizierten chronischen Lebererkrankungen in den USA zwischen 1999-2001 (n=1040), modifiziert nach Bell et al. 2008 (10)	14
Abbildung 2 Schematische Darstellung der Pathogenese des Aszites aus Gines et al. (2004) "Management of Cirrhosis and Ascites"(36).....	21
Abbildung 3 Schema des extrinsischen Weges der Apoptose modifiziert nach Guicciardi et al (95)	32
Abbildung 4 Schema des intrinsischen Weges der Apoptose modifiziert nach Guicciardi et al (95)	33
Abbildung 5 Schematische Darstellung des Ablaufes	42
Abbildung 6 Zytokeratin 18 und die Bindungsstellen von M5, M6 und M30 modifiziert nach Kramer et al. (121).....	44
Abbildung 7 M30-Konzentration der HRS-Gruppe zu Beginn der Episode / Kontrollgruppe bei Aufnahme (p-Wert < 0,001, Mann-Whitney U Test)	50
Abbildung 8 M65-Konzentration der HRS-Gruppe zu Beginn der Episode / Kontrollgruppe bei Aufnahme (p-Wert < 0,001, Mann-Whitney U Test)	50
Abbildung 9 Streudiagramm Leukozytenkonzentration bei Aufnahme in Korrelation zur M30-Konzentration (Bestimmtheitsmaß 0,175, Korrelation nach Spearman-Rho 0,18, p = 0,151)	51
Abbildung 10 Streudiagramm CRP-Konzentration bei Aufnahme in Korrelation zur M30-Konzentration (Bestimmtheitsmaß 0,031, Korrelation nach Spearman-Rho 0,317, p = 0,01)	52
Abbildung 11 Streudiagramm Leukozytenkonzentration bei Aufnahme in Korrelation zur M65-Konzentration (Bestimmtheitsmaß 0,182, Korrelation nach Spearman-Rho 0,22, p = 0,078)	53
Abbildung 12 Streudiagramm CRP-Konzentration bei Aufnahme in Korrelation zur M65-Konzentration (Bestimmtheitsmaß 0,021, Korrelation nach Spearman-Rho 0,324, p 0,009)	54
Abbildung 13 Kreatininkonzentration bei Aufnahme und Terlipressinstart (p-Wert < 0,001, Wilcoxon-Vorzeichenrangtest).....	55
Abbildung 14 Kreatinin bei Aufnahme und Terlipressinstart unterteilt in HRS I (n=33, p <0,001) und HRS II (n= 32, p = 0,34) (Wilcoxon- Vorzeichenrangtest)	56
Abbildung 15 Parallelgrafik der Kreatininkonzentration	57
Abbildung 16 Kreatininkonzentration bei Terlipressinstart und –ende (p-Wert < 0,001, Wilcoxon-Vorzeichenrangtest).....	57
Abbildung 17 Kreatinin bei Terlipressinstart und Terlipressinende unterteilt in HRS I (n=33, p <0,001) und HRS II (n= 32, p <0,001) (Wilcoxon- Vorzeichenrangtest)	58
Abbildung 18 Harnstoffkonzentration bei Terlipressinstart und –ende (p-Wert <0,001, Wilcoxon-Vorzeichenrangtest).....	59
Abbildung 19 MELD-Score bei Terlipressinstart und Entlassung (p-Wert < 0,001, Wilcoxon-Vorzeichenrangtest).....	59
Abbildung 20 Dauer der Terlipressintherapie in Tagen	60
Abbildung 21 Verteilung des Therapieansprechens	61
Abbildung 22 Subdifferenzierung in komplettes und partielles Therapieansprechen	61
Abbildung 23 M30-Konzentration aufgeteilt nach Therapieansprechen (p-Wert 0,018, Mann-Whitney U Test)	62

Abbildung 24 M65-Konzentration aufgeteilt nach Therapieansprechen (p-Wert 0,011, Mann-Whitney U Test)	63
Abbildung 25 Überlebenszeitanalyse nach Breslow unterteilt nach Therapieansprechen (p-Wert 0,049)	70
Abbildung 26 Hämodialyse- und lebertransplantationsfreies Überleben nach Breslow unterteilt nach Therapieansprechen (p-Wert <0,001)	71
Abbildung 27 Überlebenszeitanalyse nach Breslow unterteilt anhand der M30-Konzentration (p-Wert 0,844)	72
Abbildung 28 Hämodialyse- und lebertransplantationsfreies Überleben nach Breslow unterteilt nach M30-Konzentration (p-Wert 0,009)	73
Abbildung 29 Überlebenszeitanalyse nach Breslow unterteilt anhand der M65-Konzentration (p-Wert 0,736)	74
Abbildung 30 Hämodialyse- und lebertransplantationsfreies Überleben nach Breslow unterteilt nach M65-Konzentration (p-Wert 0,016)	75
Abbildung 31 Überlebenszeitanalyse nach Breslow unterteilt nach MELD-Score bei Aufnahme (p-Wert 0,010)	76
Abbildung 32 Überlebenszeitanalyse nach Breslow unterteilt nach MELD-Score bei Terlipressinstart (p-Wert 0,020)	77
Abbildung 33 Hämodialyse- und lebertransplantationsfreies Überleben nach Breslow unterteilt nach MELD-Score bei Aufnahme (p-Wert < 0,001)	78
Abbildung 34 Hämodialyse- und lebertransplantationsfreies Überleben nach Breslow unterteilt nach MELD-Score bei Terlipressinstart (p-Wert 0,004)	79
Abbildung 35 Überlebenszeitanalyse nach Breslow unterteilt nach Leistung hinsichtlich einer Lebertransplantation (p-Wert 0,028)	80
Abbildung 36 Hämodialyse- und lebertransplantationsfreies Überleben nach Breslow unterteilt nach Leistung hinsichtlich einer Lebertransplantation (p-Wert 0,983)	81
Abbildung 37 Überlebenszeitanalyse nach Breslow unterteilt nach Floridität zum Zeitpunkt des HRS (p-Wert 0,305)	82
Abbildung 38 Hämodialyse- und lebertransplantationsfreies Überleben nach Breslow unterteilt nach Floridität zum Zeitpunkt des HRS (p-Wert 0,406)	83
Abbildung 39 Überlebenszeitanalyse nach Breslow unterteilt nach Hämodialyse im Krankheitsverlauf (p-Wert 0,276)	84

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Laborparameter bei Leberzirrhose (Referenzwerte für Frauen in Klammer falls abweichend) (Angaben des Referenzbereiches der Universitätsmedizin Mainz)	15
Tabelle 2 Verteilung der Child-Pugh-Score Punkte (13-15)	16
Tabelle 3 Child-Stadien und Überlebensrate (7)	16
Tabelle 4 West-Haven-Kriterien (gestörter mentaler Zustand) sowie Klassifikation der International Society of Hepatic Encephalopathy and Nitrogen Metabolism nach (ISHEN) zur klinischen Graduierung einer manifesten hepatischen Enzephalopathie modifiziert nach McAvoy et al und Gerbes et al (32, 41)	23
Tabelle 5 Tabellarische Darstellung der verwendeten Materialien	40
Tabelle 6 Ätiologische und biografische Daten der Patientenkollektive (Mann-Whitney-U Test, Chi-Quadrat Test)	48

Tabelle 7 Labormedizinische Parameter der Kollektive bei Aufnahme (Mann-Whitney-U Test)	49
Tabelle 8 Univariate Analyse Therapieansprechen (Mann-Whitney U Test, Chi-Quadrat nach Pearson)	64
Tabelle 9 Univariate Analyse M30 hoch/niedrig (Mann-Whitney U Test, Chi-Quadrat nach Pearson)	66
Tabelle 10 Univariate Analyse M65 hoch/niedrig (Mann-Whitney U Test, Chi-Quadrat nach Pearson)	67
Tabelle 11 Univariate Analyse in Bezug auf überlebende/verstorbene Patienten (Mann-Whitney U Test, Chi-Quadrat nach Pearson)	68

1. Einleitung

Die Leberzirrhose ist eine Folgeerkrankung einer über Jahre hinweg persistierenden chronischen Schädigung des Leberparenchyms und für ungefähr 1-2% der Tode in Europa verantwortlich (1). Eine schwerwiegende Folge der Leberzirrhose ist das hepatorenale Syndrom. Typ I dieser Erkrankung tritt häufig bei den Patienten mit Leberzirrhose im Rahmen eines prädisponierenden Ereignisses auf, wie z.B. einer spontan bakteriellen Peritonitis, gastroösophagealen Blutung oder nach großvolumigen Parazentesen (2). Hierbei weisen die Patienten eine mediane Überlebenszeit von lediglich 2 Wochen auf, was auf die große Notwendigkeit für eine schnelle Diagnostik und bestmögliche Therapie unterstreicht. Ziel der Therapie ist die Optimierung der Nierenfunktion und beinhaltet u.a. gezieltes Vermeiden von nephrotoxischen Substanzen, Substitution von Albumin zur Verbesserung des onkotischen Druckes so wie die medikamentöse Verbesserung der Nierenperfusion, in der Regel mit Vasopressin-Analoga. Derzeit gibt es noch keine zuverlässige Methode, um die Entwicklung eines HRS vorherzusehen. Des Weiteren konnten bislang keine prädiktiven Faktoren identifiziert werden, die bereits zu Beginn der Erkrankung ein Therapieansprechen abschätzen lassen. Zwar gibt es Hinweise, dass eine Absenkung des mittleren arteriellen Druckes an Tag 3 um 5 mmHg ein Therapieansprechen vorhersagt (3). Die Messung des mittleren arteriellen Druckes erfordert allerdings eine invasive Bestimmung. Zudem wäre es erstrebenswert einen Biomarker zu identifizieren, der bereits bei Beginn der Therapie oder möglicherweise sogar bei Aufnahme eines Patienten mit Leberzirrhose noch, vor der Entwicklung eines HRS vorhersagt, ob der Patient ein HRS entwickelt beziehungsweise ob er auf eine spezifische Therapie ansprechen wird.

In der vorliegenden Kohorte wurden die gängigen Inflammationsparameter (C-reaktives Protein, Leukozytenzahl) und Zelltodbiomarker im Serum von Patienten mit Leberzirrhose und HRS gemessen. Mit Hilfe eines spezifischen Testverfahrens wurden hier zirkulierende Zytokeratine erfasst, die häufig in der Leber synthetisiert werden und ein Grundbaustein des Zytoskeletts der Hepatozyten ausmachen. Hierbei handelt es sich konkret um Antikörper, die gegen bestimmte Epitope des Zytokeratins 18 gerichtet sind. M30 erkennt hierbei, das im Rahmen der Apoptose anfallende Spaltprodukt des Zytokeratins 18, M65 bestimmt den Gesamtanteil des zirkulierenden Zytokeratin 18, welches im Rahmen der Nekrose freigesetzt wird. Die

verwendeten Biomarker wurden bereits in diversen anderen Studien verwendet, um zwischen verschiedenen Krankheitsstadien entzündlicher Lebererkrankungen zu differenzieren (4-6). In diesen Studien wurde ebenfalls getestet, ob diese Zelltodbiomarker als prädiktive Faktoren zur Früherkennung von zum Beispiel einer Leberfibrose oder Steatohepatitis geeignet seien, oder ob sie in Kombination mit anderen serologischen Parametern (zum Beispiel dem AFP) geeignet sind ein hepatozelluläre Karzinom frühzeitig zu erkennen.

Zum Stellenwert von Zelltodbiomarkern bei Patienten mit Leberzirrhose und HRS liegen bisher nur wenige Erkenntnisse vor. Ziel der vorliegenden Arbeit war es zu untersuchen, inwieweit Zelltodbiomarker sowohl mit der Entwicklung eines HRS als auch dem Ansprechen auf eine Vasokonstriktoren-Therapie assoziiert sind und als diagnostisches Tool geeignet sein könnten.

2. Literaturdiskussion

2.1. Leberzirrhose

Bei einer Leberzirrhose handelt es sich um das Endstadium einer Leberfibrose. Die histopathologische Grundlage des zirrhatischen Umbau ist ein über einen längeren Zeitraum, in der Regel Jahre oder Jahrzehnte bestehender inflammatorischer Schädigungsprozess der Hepatozyten, bedingt durch eine zugrunde liegende chronische Lebererkrankung. Hierbei entstehende fibrotische Bänder, die das Leberparenchym in sogenannte Regeneratknoten unterteilen (7, 8). Die Hauptursachen in den westlichen Ländern sind Alkoholabusus und die chronische Infektion mit viraler Hepatitis B und C (7, 9, 10). Aber auch andere Ursachen wie die NASH, als Folge des metabolischen Syndroms können zu der Entwicklung einer Leberzirrhose führen. Aufgrund des bindegewebartigen Umbaus des Parenchyms kommt es zu einem Verlust von stoffwechselaktiven Hepatozyten, die durch Bindegewebe ersetzt werden. Dadurch wird auf Dauer die Stoffwechselfunktion der Leber eingeschränkt. Zudem erhöht sich der intrahepatische Widerstand, welcher zu einer Veränderung des portalen Flussprofils führt und nachfolgend eine portale Hypertension sowie die Ausbildung von intrahepatischen porto-systemischen Shunts begünstigt (7, 10).

Weitere Ursachen sind: Autoimmunhepatitis, primär biliäre Cholangitis/primär sklerosierende Cholangitis, toxische Lebererkrankungen, Stoffwechselerkrankungen (Hämochromatose, M. Wilson, alpha1-Antitrypsinmangel, Cystische Fibrose), Zirrhose durch chronische Rechtsherzbelastung (cirrhose cardiaque), Budd-Chiari-Syndrom sowie diverse Tropenerkrankungen (Bilharziose, Leberegel) (11).

Bell et al. zeigten im Jahre 2008 in ihrer Studie die häufigsten Ursachen von neu diagnostizierten chronischen Lebererkrankungen in den USA zwischen den Jahren 1999-2001. Hierbei wurden in die Studie 1040 Patienten eingeschlossen, bei denen in diesem Zeitraum eine chronische Lebererkrankung diagnostiziert wurde. In Abbildung 1 lassen sich die epidemiologischen Resultate der Studie nachvollziehen (10).

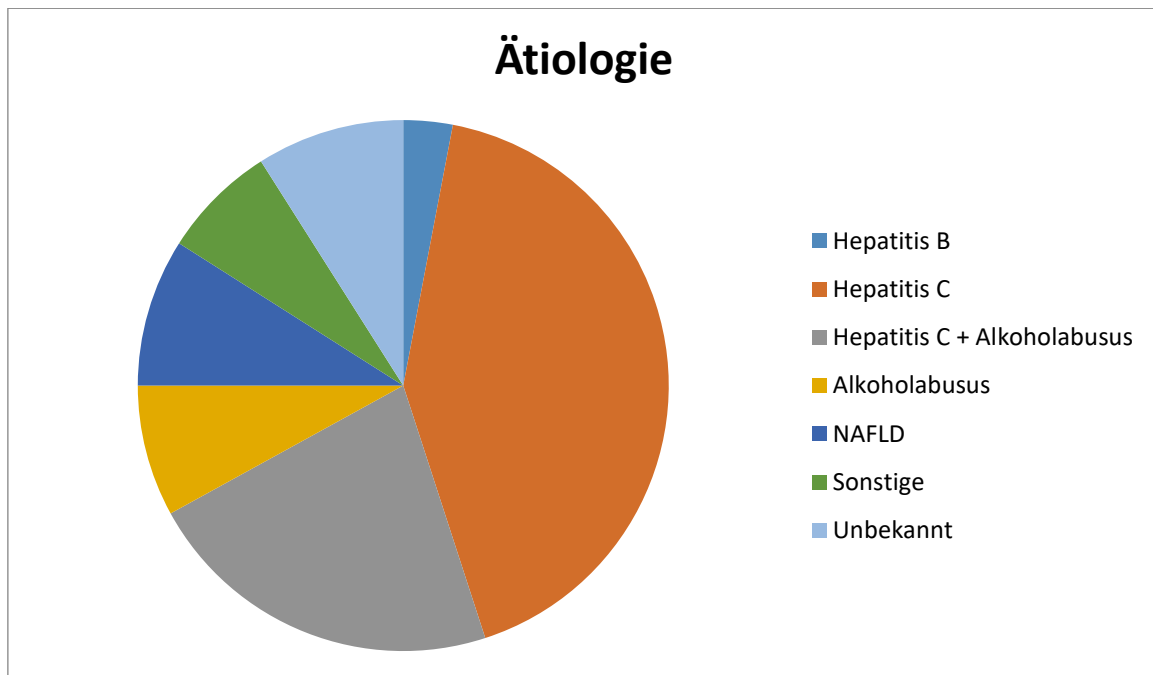


Abbildung 1 Häufigsten Ursachen von neu diagnostizierten chronischen Lebererkrankungen in den USA zwischen 1999-2001 (n=1040), modifiziert nach Bell et al. 2008 (10)

Die klinische Symptomatik von Patienten mit Leberzirrhose lässt sich, unabhängig von der zur Grunde liegenden Ätiologie, in verschiedene Unterkategorien einteilen. Allgemein beschreiben die Patienten unspezifische Symptome wie Müdigkeit, Abgeschlagenheit und einen Abfall ihrer Leistungsfähigkeit. Hinzu kommen noch diffuse Oberbauchbeschwerden und Gewichtsabnahme. In der klinischen Untersuchung können Leberhautzeichen dargestellt werden: Spider naevi, Palmar- und Plantarerythem, Lacklippen/Lackzunge, Juckreiz, Hautatrophie gepaart mit Teleangiektasie, Weißnägel sowie durch die hormonelle Veränderung beim Mann eine Bauchglatze, Hodenatrophie und eventuell Gynäkomastie, bei der Frau Menstruationsstörungen (7).

Zur laborchemischen Analyse der Leberfunktion stehen folgende Parameter zur Verfügung:

Tabelle 1 Laborparameter bei Leberzirrhose (Referenzwerte für Frauen in Klammer falls abweichend) (Angaben des Referenzbereiches der Universitätsmedizin Mainz)

Laborparameter	Referenzbereich	Abweichung bei Zirrhose
INR	Nach Indikation	↑
Albumin	34-48 g/l	↓
Bilirubin	0.3-1.2 mg/dl	↑
Ammoniak	18-72 µmol/l	↑ (bei HE)
GOT	5-35 U/l (5-31 U/l)	↑
GPT	<50 U/l (<35 U/l)	↑
GLDH	<7 U/l (< 5 U/l)	↑
AP	43-138 U/l (37-111)	↑
Gamma-GT	12-64 U/l (9-36 U/l)	↑

Für die Diagnosestellung einer Leberzirrhose stehen verschiedene technische Verfahren zur Verfügung. Die Diagnose einer Leberzirrhose kann bei entsprechender klinischer Symptomatik, eindeutigen Laborveränderungen und bildmorphologisch zu einer Leberzirrhose passendem Befund in einer Ultraschall oder CT-/MRT-Untersuchung nicht-invasiv gestellt werden. Bildgebenden Verfahren sind außerdem geeignet eventuelle Komplikationen der Leberzirrhose zu erkennen, wie z.B. Aszites oder Raumforderungen in der zirrotisch umgebauten Leber, die auf ein hepatozelluläres Karzinom (HCC) hinweisen können (7). Der Goldstandard in der Diagnostik ist jedoch die Leberpunktion mit anschließender histologischer Aufarbeitung, die insbesondere bei nicht-eindeutigen Fällen oder unklarer Grunderkrankung der Leber erfolgen sollte. Hierbei kann nicht nur die Diagnose gesichert werden, sondern lässt sich auch gegebenenfalls ein Rückschluss auf die Ätiologie der Zirrhose ziehen, welche eindeutige Relevanz für die weitere Therapie besitzt (12). Auf die Biopsie kann verzichtet werden, wenn bereits klinische Anzeichen einer Zirrhose erkennbar sind (7, 11).

2.1.1. Schweregradeinteilung nach Child-Pugh-Score

Zur Einschätzung des Stadiums einer fortgeschrittenen Lebererkrankung steht unter anderem der Child-Pugh-Score zur Verfügung, der den Schweregrad der Leberzirrhose in drei Stadien einteilt (Child-Pugh Stadium A, B und C). Mit Hilfe des Child-Pugh-Score kann unter anderem die 1-Jahresüberlebensrate grob abgeschätzt

werden (Child A 100%, Child B 80%, Child C 45%,) sowie die Wahrscheinlichkeit, Komplikationen zu entwickeln (7). In diesen fließen folgende Parameter ein: Serumalbumin, Serumbilirubin, der INR, die Menge des Aszites und der Grad der hepatischen Enzephalopathie (13-15). In Tabelle 1 ist die Punkteverteilung zu entnehmen, nach deren Summation das Child-Stadium bestimmt werden kann, in Tabelle 2 die Verteilung auf die verschiedenen Child-Pugh-Stadien sowie deren 1-Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit. Die Menge des Aszites wird in der Sonographie des Abdomens beurteilt und unterliegt daher der Einschätzung des individuellen Untersuchers. Der Grad der Enzephalopathie unterliegt ebenfalls der subjektiven Einschätzung des erhebenden Arztes und wird im Kapitel 2.2.5. separat betrachtet (15). Die Anfälligkeit des Child-Pugh-Score besteht unter anderem im sogenannten „ceiling effect“. Dieser beschreibt, dass Patienten die gleiche Anzahl an Punkten erhalten, obwohl sie unterschiedlich hohe Parameter aufweisen. Zum Beispiel erhält ein Patient mit einem Bilirubinwert von 5 mg/dl ebenso viele Punkte, wie ein Patient mit 25 mg/dl (15, 16).

Tabelle 2 Verteilung der Child-Pugh-Score Punkte (13-15)

	1 Punkt	2 Punkte	3 Punkte
Albumin i.S. (g/dl)	>3,5	2,8-3,5	<2,8
Bilirubin i.S. (mg/dl)	<2,0	2,0-3,0	>3,0
INR	<1,7	1,71-2,20	>2,20
Aszites	0	Leicht	Mittelgradig
Enzephalopathie	0	I-II	III-IV

Tabelle 3 Child-Stadien und Überlebensrate (7)

	Child-Pugh-Punkte	1-Jahres Überlebensrate
A	5-6	100%
B	7-9	80%
C	10-15	45%

2.1.2. MELD-Score

Bei dem MELD-Score handelt es sich um einen Risikoscore, der die 3-Monatsmortalität ohne Lebertransplantation angibt (17, 18). Hierbei steht das Akronym MELD für Model of endstage liver disease. Bei einem MELD-Score von 40 liegt die 3-Monatsmortalität bei annähernd 100% (17, 18). Der MELD-Score wurde ursprünglich für die Prognose der Patienten mit Leberzirrhose, die eine TIPS-Intervention bekamen, verwendet (15, 16, 19). In die Berechnung dieses Score

gehen folgende Werte ein: INR, Kreatinin im Serum (mg/dl), Bilirubin im Serum (mg/dl) (nachfolgend sei definiert, dass bei den Ausdrücken „Kreatinin“, „Kreatininkonzentration“ und Bilirubin, wenn nicht anders deklariert, von der Konzentration im Serum ausgegangen wird). Zwei dieser Parameter, das Bilirubin und der INR, spiegeln die Synthesefunktion der Leber des Patienten wider das Serumkreatinin die Nierenfunktion. Der MELD-Score setzt sich aus prognostisch relevanten Parametern zusammen. Kamath et al. zeigten in ihrer Studie, dass der „ceiling effect“ der durch den Child-Pugh-Score auftritt, beim MELD nicht vorhanden ist (16). Ebenfalls werden beim MELD die unterschiedlichen Parameter, anhand ihrer prognostischen Bedeutsamkeit, unterschiedlich gewichtet. Hierbei erhält die Nierenfunktion eine besondere Wichtung, da diese für die Prognose sehr relevant ist (15). Zudem werden nur Parameter erhoben, die nicht unter der subjektiven Einschätzung des Arztes stehen (15, 16, 20). Bei Patienten, deren Überlebensaussichten durch das Vorhandensein eines hepatozellulären Karzinoms beeinträchtigt sind, bildet der MELD-Score unter Umständen die Überlebenschance nicht adäquat ab, insbesondere wenn die Leberfunktion selbst noch weitgehend erhalten ist. Mit den Standard Exceptions wurden zusätzliche Regelungen bei der Leberorganvergabe geschaffen, die diesen Patienten über die abgelaufene Wartezeit auf der Transplantationsliste zusätzliche Punkte für die Dringlichkeit zugestehen (17).

2.2. Komplikationen der Leberzirrhose

2.2.1. Portale Hypertension

Die portale Hypertonie ist definiert als ein Zustand eines erhöhten Druckgradienten zwischen der Vena porta und der Vena cava inferior. Hierbei entstehen portal-venöse Kollateralen, zum Beispiel gastroösophageale (21). Grundsätzlich gibt es verschiedene Ursachen, die den erhöhten Druckgradienten verursachen können. Eingeteilt wird es in drei verschiedene Abschnitte:

a) prähepatisch b) posthepatisch c) intrahepatisch

Der prähepatische Abschnitt umfasst das Splanchnikusgebiet und die Portalvene. Hierbei ist als Ursache die Pfortaderthrombose führend (21, 22). Die häufigste Ursache der posthepatischen portalen Hypertension ist das Budd-Chiari Syndrom. Hierbei handelt es sich um einen Verschluss der Lebervenen, meist thrombotischer Genese (21, 22). Die intrahepatischen Hypertension wird am häufigsten bedingt

durch eine Leberzirrhose, die auf dem Boden lang dauernder chronischer Leberschädigungen basiert. Im Speziellen soll nun auf die intrahepatische portale Hypertension eingegangen werden. Verursacht wird diese durch eine Erhöhung des intrahepatischen Blutflusswiderstandes, der wiederum die Folge des fibrotischen Umbaus und einer intrahepatischen Vasokonstriktion ist (22-24). Die Vasokonstriktion ist zu einem Viertel an der Erhöhung des intrahepatischen Gefäßwiderstandes beteiligt (23). Pathophysiologisch basiert dieses auf verschiedenen Mechanismen, wobei im Nachfolgenden nur auf zwei eingegangen wird. Zum einen ist die Produktion von NO, einem potenten Vasodilatator, in der zirrhotischen Leber, reduziert. Zum anderen ist die Bildung von Vasokonstriktoren wie Thromboxan A2 erhöht. Dadurch steigt der intrahepatische Gefäßwiderstand (23). Somit resultiert daraus eine verstärkte Eröffnung von Kollateralkreisläufen zum Abtransport des portalvenösen Blutes, ebenso wird die Durchblutung des Splanchnikusgebietes kompensatorisch gesteigert um den erhöhten Abfluss durch die Kollateralvenen auszugleichen (23). Hierbei kommt es, durch mechanische Kräfte und Scherstress, unter anderem zu einer vermehrten Bildung von Vasodilatoren, wie z.B. NO im Splanchnikusgebiet, welche eine Vasodilatation fördern (23, 25).

Diagnostisch stehen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung eine portale Hypertension zu diagnostizieren. Zunächst kann der Lebervenenverschlussdruck ermittelt werden. Hierfür wird im Rahmen einer venösen Katheterintervention unter Durchleuchtung die rechte Lebervene sondiert. Diese Messung erlaubt in Folge den portalen Druck abzuschätzen. Der Normbereich liegt hierbei zwischen 1-5 mmHg (21, 22, 26). Weitere indirekte Hinweise auf eine portale Hypertension können in der abdominalen Sonografie und der Endoskopie erhoben werden. Hier können sich mögliche Kollateralkreisläufe (Ösophagusvarizen, prominente Umbilikalvenen), Splenomegalie oder lokale Veränderungen wie die portal-hypertensive Gastropathie zeigen (26).

Therapieansatz der portalen Hypertension ist, den vasogenen Widerstand in der Leber zu verringern. Hierfür werden vor allem zur dauerhaften Behandlung und Prävention einer Varizenblutung die nicht-selektiven beta-Blocker wie zum Beispiel Propranolol und Nadolol eingesetzt (22, 23).

2.2.2. Varizen

Circa 1/3 der Patienten mit kompensierter Leberzirrhose weisen aufgrund der portalen Hypertension gastroösophageale Varizen auf (21). Ab einem portalvenösen

Druck von 10 mmHg steigt die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Varizen (21, 22, 27). Auf dem Boden der portalen Hypertension bilden sich sogenannte porto-cavale Anastomosen. Zu diesen porto-cavalen Anastomosen zählen auch die Umbilikalvenen, die bei einer Stauung im Pfortadersystem den Rückfluss des venösen Blutes der unteren Extremität zum Herzen ermöglichen. Diese lassen sich dann an der Bauchhaut paraumbilikal feststellen und werden als Caput medusae externum bezeichnet, sowie per Sonographie an der Innenseite der Bauchwand. Hierbei bezeichnet man sie als Caput medusae internum. Die Wahrscheinlichkeit einer Varizenblutung in diesem Patientenkollektiv liegt bei ca. 4% pro Jahr (21). Das Risiko eine Blutung nach 2 Jahren zu entwickeln, ohne Behandlung der Grunderkrankung in der Zwischenzeit, liegt bei 8-35% (28). Tritt als Komplikation der Varizen eine Blutung auf so geht man von einer 6-Wochen-Mortalität von 10-20% aus (26, 29). Das therapeutische Prinzip basiert auf einer primären und sekundären Blutungsprophylaxe. Zur Therapie der zugrundeliegenden Pathophysiologie werden nicht-selektive beta-Blocker eingesetzt, die die portale Hypertension behandeln und somit den portalen Widerstand senken sollen. Hierdurch wird das Risiko einer ersten Blutung um bis zu 9% in zwei Jahren reduziert (22). Ein zweiter primärer Therapieansatz ist die endoskopische Varizenligatur, diese kann zum Beispiel bei Kontraindikationen gegen beta-Blocker eingesetzt werden (21, 22, 24, 26, 27, 29, 30).

Im Rahmen einer akuten Varizenblutung wird die kombinierte Therapie mittels Endoskopie und Pharmakotherapie empfohlen. Zur akuten Pharmakotherapie können Vasopressin-Analoga eingesetzt werden (22).

Die sekundäre Prophylaxe nach stattgehabter Varizenblutung besteht aus einer endoskopischen Varizenligatur in Kombination mit einer nicht-selektiven beta-Blocker Therapie. Eine Senkung des portalvenösen Druck auf unter 12 mmHg oder eine Reduktion des Ausgangswertes um 20% wird hierbei angestrebt um das Risiko einer Rezidivblutung deutlich zu senken. Die Anlage eines portosystemischen Shunts bei Patienten mit Leberzirrhose und portaler Hypertension ist durch das o.g. TIPS-Verfahren weitestgehend abgelöst worden (21, 22, 24, 26, 27, 29, 30).

2.2.3. Aszites

Hierbei handelt es sich um eine Ansammlung von seröser Flüssigkeit in der freien Bauchhöhle. Die aktualisierte S2k -Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) konstatiert,

dass „bei etwa 75% der Patienten [...] die Ursache im Bereich der Leber zu finden“ ist (31, 32). Es wird geschätzt, dass ca. 50% der Patienten mit Erstdiagnose einer Leberzirrhose im Verlauf der nächsten 10 Jahre Aszites entwickeln (1, 33, 34). Die Pathogenese ist ein Zusammenspiel verschiedener Faktoren, die als Ursache für die Entstehung gesehen werden können. Zum einen kommt es aufgrund der portalen Hypertension zu einer Hypervolämie der Gefäße im Bereich des Splanchnikusgebietes, zum anderen kommt es durch eine Verminderung des effektiven Blutvolumens zu einer Verminderung des arteriellen Druckes. Hieraus resultiert eine Aktivierung des RAAS, welches zu einer erhöhten Natriumretention in der Niere führt. Diese Natriumretention erhöht wiederum extrazelluläre Flüssigkeitsansammlungen, welche dann wieder zu vermehrtem Aszites (35, 36) und gleichzeitig zu einer Verdünnungshyponatriämie führt (34). Zudem wird aufgrund der eingeschränkten Leberfunktion weniger Albumin synthetisiert, welches einen großen Einfluss auf den kolloidosmotischen Druck besitzt (37). Das Auftreten von Aszites wird als Dekompensation der Leberzirrhose gewertet, welche wiederum mit einer schlechten Prognose einhergeht (35). Ein Überblick über die Pathogenese zeigen Gines et al. in ihrem Review „Management of Cirrhosis and Ascites“:

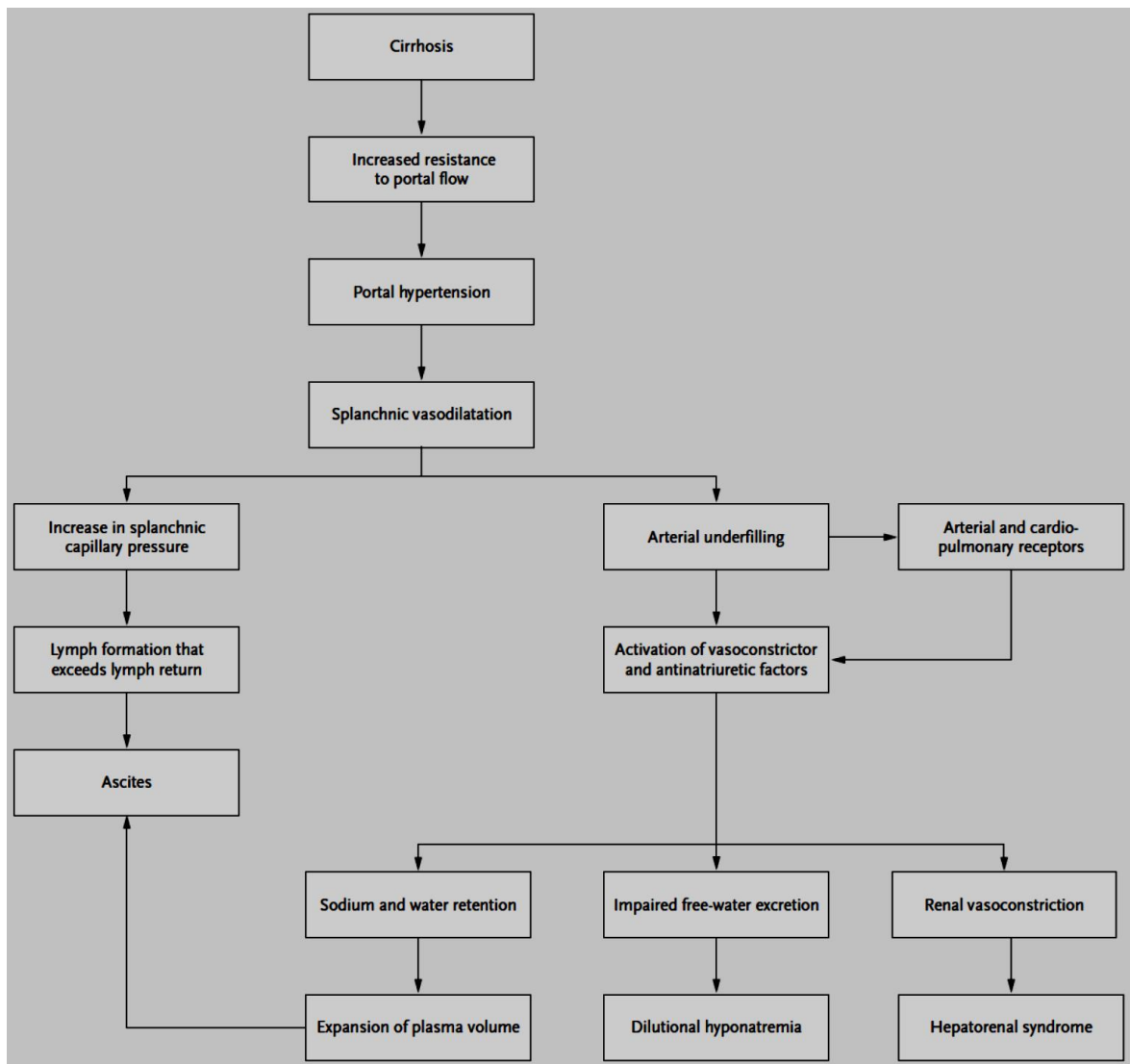


Abbildung 2 Schematische Darstellung der Pathogenese des Aszites aus Gines et al. (2004) "Management of Cirrhosis and Ascites"(36)

2.2.4. Hepatopulmonales Syndrom

Beim hepatopulmonalen Syndrom handelt es sich um eine intrapulmonale Komplikation der Leberzirrhose. Bei vielen Patienten liegt neben der Zirrhose eine portale Hypertension vor. Hierbei kommt es zu einer Dilatation der intrapulmonalen Gefäße, welche unter anderem durch NO verursacht wird. Hieraus resultiert ein Missverhältnis zwischen Perfusion und Ventilation in der Lunge zugunsten der Perfusion. Nachfolgend kann keine adäquate Oxygenierung des erhöhten Perfusionsangebotes stattfinden, zudem entsteht ein vermehrter Rechts-Links-Shunt mit nachfolgender Hypoxie (32). Die Mortalitätsrate der Patienten, zweieinhalb Jahre nach Diagnosestellung, liegt bei circa 41% (38) und es tritt bei circa 15-20% der Patienten mit Zirrhose auf (39). Eine spezifische medikamentöse Therapie konnte in Studien noch nicht auf Erfolg stoßen. Eine symptomatische Therapie mit

Verabreichung von Sauerstoff kann erfolgen. Der einzige kurative Therapieansatz des hepatopulmonalen Syndroms ist die Lebertransplantation (32).

2.2.5. Hepatische Enzephalopathie

Die amerikanischen und europäischen Leitlinien definieren die hepatische Enzephalopathie als „zerebrale Dysfunktion basierend auf einer Leberinsuffizienz und/oder eines portosystemischen Shunts; sie besteht aus einem weiten Spektrum von neurologischen oder psychiatrischen Veränderungen, von subklinischen Abweichungen bis hin zum Koma“ (40). Aufgrund der eingeschränkten Entgiftungsleistung der Leber kommt es zur Kumulation von neurotoxischen Stoffen (z.B. Ammoniak, Phenole, GABA, endogene Benzodiazepine). Dies führt wiederum zu einer Veränderung des osmotischen Gleichgewichts, welches zum Anschwellen der Astrozyten führen kann (41, 42). Ein weiterer Grund für den ansteigenden Spiegel der toxischen Metabolite im ZNS ist die teilweise Umgehung der Leber durch Kollateralkreisläufe mit entsprechender Umgehung des first-pass Effekts (42). Dieser Mechanismus kann auch bei Anlage einer therapeutischen Shunts auftreten, der die portale Hypertension senken soll (TIPS-Anlage) (42).

Bei Zeitpunkt der Diagnosestellung einer Leberzirrhose liegt die Prävalenz der overten hepatischen Enzephalopathie bei 10-14% (40). Betrachtet man ein Patientenkollektiv mit dekompensierten Leberzirrhose steigt die Prävalenz auf 16-21% (40). Patienten, die mit einem TIPS versorgt wurden weisen zudem eine Prävalenz einer hepatischen Enzephalopathie zwischen 10-50% auf (40, 43). Das Risiko einer fulminanten hepatischen Enzephalopathie, 5 Jahre nach Diagnosestellung einer Leberzirrhose, liegt bei 5-25%. Dies liegt vor allem an akut auftretenden Komplikationen wie Varizenblutung, Aszites oder Infektionen (40, 43).

Es bestehen verschiedene Möglichkeiten, die hepatische Enzephalopathie einzuteilen: anhand der Grunderkrankung, des Schweregrades der Manifestation, dem Verlauf oder der vorbestehenden Risikofaktoren. (40, 43, 44)

Klinisch häufig wird die Einteilung nach den West Haven Criteria verwendet, um den geistigen Zustand des Patienten zu beurteilen. Die International Society of Hepatic Encephalopathy and Nitrogen Metabolism (ISHEN) bezeichnet die die ersten beiden Grade der hepatischen Enzephalopathie als verdeckt (covert). Dies bezieht sich darauf, dass die Defizite häufig im klinischen Alltag noch nicht zu bemerken sind (32, 40). Die Einteilung ist in Tabelle 3 wiederzufinden.

Tabelle 4 West-Haven-Kriterien (gestörter mentaler Zustand) sowie Klassifikation der International Society of Hepatic Encephalopathy and Nitrogen Metabolism nach (ISHEN) zur klinischen Graduierung einer manifesten hepatischen Enzephalopathie modifiziert nach McAvoy et al und Gerbes et al (32, 41)

Grad	Klinisches Bild des Patienten
0 (verdeckte/Coverte HE)	Unauffällig
1 (verdeckte/Coverte HE)	Leichtgradige mentale Verlangsamung Verringerte Aufmerksamkeit, Euphorie und Ängstlichkeit Beeinträchtigung in Subtraktion und Addition
2 (offensichtlich/overte HE)	Lethargie, Apathie, Nicht orientiert zu Zeit und Ort Persönlichkeitsveränderung Unangemessenes Verhalten
3 (offensichtlich/overte HE)	Somnolenz bis zum Semi-Stupor, reagiert auf Reize Verwirrung Nicht orientiert zu Zeit, Ort, Person
4 (offensichtlich/Overte HE)	Koma

2.2.6. Hepatorenales Syndrom

Beim hepatorenalen Syndrom handelt es sich um eine funktionelle Nierenfunktionsstörung die von einer Oligurie bis hin zur Anurie führen kann (3). In circa 50% der Fälle lassen sich einer oder mehrere auslösende Faktoren identifizieren, ein spontanes Auftreten ist demnach aber ebenso möglich (3, 35). Zu den häufigsten gehören die spontan bakteriellen Peritonitis (20-60%), großvolumige Paracentesen ohne adäquate Volumensubstitution (circa 7-15%) sowie schwere gastrointestinale Blutungen (10-40 %) (3, 25, 45, 46).

Die aktualisierte S2k Leitlinie zu Aszites definiert das hepatorenale Syndrom als „potenziell reversible Nierenfunktionsstörung bei Patienten mit Leberzirrhose und Aszites oder bei Patienten mit alkoholischer Steatohepatitis.“ (32) Man unterscheidet zwei Typen des hepatorenalen Syndroms. Der Typ I zeichnet sich durch ein rasch fortschreitendes Nierenversagen aus, bei dem es innerhalb von 2 Wochen zu einer Verdoppelung und/oder Erhöhung des Serumkreatinins auf über 2,5 mg/dl kommt (3, 31, 35, 45). Beim Typ II tritt ein langsam progredienter Anstieg der Nierenretentionsparameter auf. Diese befinden sich im Bereich zwischen 1,5-2,5 mg/dl und spiegeln ein langsam fortschreitendes Nierenversagen wider. Häufig haben diese Patienten begleitend einen therapierefraktärer Aszites (35). In diesem Rahmen kann es zu einem auslösenden Ereignis kommen, wie zum Beispiel einer spontanen bakteriellen Peritonitis, so dass sich auch bei II HRS Patienten ein Typ I HRS entwickeln kann (35). Die diagnostischen Kriterien sind unter dem Kapitel 2.2.7.1. aufgeführt.

Das Krankheitsbild geht mit einer hohen Mortalität und einer kurzen medianen Überlebenszeit der Patienten einher. Beim HRS Typ I liegt die mediane Überlebenszeit bei circa 2 Wochen, die der Patienten mit Typ II bei circa 4-6 Monaten (3, 45, 47-49). Die 3 Monatsüberlebensrate der Patienten liegt bei den Patienten mit HRS Typ I bei 10% , bei denen mit HRS Typ II bei 70% (50).

Pathophysiologisch sind vier Faktoren beschrieben, die an der Entwicklung eines hepatorenalen Syndroms beteiligt sind. Zunächst kann es über den bestehenden portalen Hochdruck zu einer vermehrten Perfusion und Vasodilatation innerhalb des Splanchnikusgebietes kommen, die wiederum das systemische Volumen reduziert und den mittleren arteriellen Druck sinken lässt (35, 45, 47, 48, 50, 51). Die Vasodilatation im Splanchnikusgebiet sowie im peripheren Kreislauf ist eine Folge der vermehrten Produktion von körpereigenen Botenstoffen wie NO, CO etc., die im Rahmen der portalen Hypertension vermehrt auftreten (1, 3, 45, 47, 52). Dieser Ansatz wurde bereits 1996 von Arroyo beschrieben und als „traditional Underfilling Hypothesis“ bezeichnet (53). Der zweite Faktor entwickelt sich aus der zu niedrigen Perfusion des Nierenparenchyms, welche zu einer vermehrten Aktivierung des RAAS führt, die wiederum eine Kontraktion der Nierengefäße zur Folge hat (1, 3, 35, 47, 54, 55). Ein weiterer wichtiger Faktor in der Genese des HRS ist die Entwicklung einer zirrhotischen Kardiomyopathie, die die kompensatorische Steigerung der Auswurfleistung, im Zuge der Splanchnikusdilatation, beeinträchtigt (1, 3, 35, 51, 56). Das Herz versucht aufgrund des verringerten peripheren Volumens die Herzleistung zu steigern, was zu einer hyperdynamen Kreislauffunktion führt und sich klinisch durch erhöhte Herzfrequenzen und erhöhtem Herzminutenvolumen bei Patienten mit HRS zeigt (47). Als letzter Faktor, der in die Pathogenese mit einspielt, ist die Bildung von vasoaktiven Substanzen zu nennen, die Einfluss auf die renale Perfusion und Mikrozirkulation haben könnten (35, 52). Diese entstehen unter anderem im Rahmen von systemischen Entzündungsreaktion (57). Patienten mit fortgeschrittener Leberzirrhose zeigen ein erhöhtes Entzündungsniveau (46, 57). Dies ist am ehesten bedingt durch eine Verschiebung des Gleichgewichts zu Gunsten von proinflammatorischen molekularen Signalwegen in Immunzellen wie zum Beispiel den Monozyten (57, 58). Hierzu zählt unter anderem die Produktion des TNF-alpha, welches in verschiedenen Studien mit dem Schweregrad der Leberschädigung assoziiert werden konnte (58). Eine Studie von Tazi et al. ergab, dass unter ex vivo Bedingungen Monozyten von Leberzirrhose Patienten Child Pugh

C, die keinerlei Infektion erlitten, eine spontane Bildung und verstärkte Membranbindung von TNF-alpha aufweisen. Ebenso zeigten sie eine verringerte Produktion von Inflammationssuppressoren, zum Beispiel die Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt (58). Neben dem TNF-alpha treten verschiedene andere Mediatoren im Rahmen von Entzündungsprozessen auf. Nicht nur die spontane Produktion der Entzündungsmediatoren spielt eine entscheidende Rolle bei systemischen Entzündungsprozessen, sondern auch die Produktion im Zusammenhang mit Infektionen (59). Die Arbeitsgruppe um Navasa et al. zeigte eine deutliche Erhöhung der Konzentration an IL-6 sowie TNF-alpha im Aszitespunktat im Vergleich zum Plasma, bei Patienten mit spontan bakterieller Peritonitis. Diese werden am ehesten durch Makrophagen im Peritoneum gebildet und treten sekundär in das Plasma über. Byl et al. beschreiben, dass Patienten mit Leberzirrhose und einer Infektion, unter anderem Aszites im Rahmen einer spontan bakteriellen Peritonitis, eine knapp 10-20-fach höhere Konzentration an TNF-alpha und IL-6 im Plasma besitzen im Vergleich zu Patienten mit Zirrhose ohne begleitende Infektion (60). Somit zeigt sich dass der TNF-alpha eine Schlüsselposition der verschiedenen Inflammationswege einnimmt, sei es im Rahmen der Zirrhose oder einer Infektion. Zytokine wie TNF-alpha steigern die Produktion von NO in den Gefäßen und wirken daher in diesem Zusammenhang als Mediatoren, die über eine Vasodilatation zu einer Kreislaufdysfunktion führen und eine renale Minderperfusion nach sich ziehen (46, 61).

Klinisch zeigt sich der Patient, neben den bereits in den vorherigen Kapiteln beschriebenen möglichen Folgeerkrankungen der Leberzirrhose, zusätzlich mit einer „Verdünnungshyponatriämie, Tachykardie, arterieller Hypotonie mit einem mittleren arteriellen Druck von 80mmHg oder weniger“, und einer verringerten Urinausscheidung (2, 3, 25).

2.2.7.1. Diagnose des hepatorenenal Syndroms

Nach der aktualisierten S2k-Leitlinie gilt das hepatorenale Syndrom als diagnostisch gesichert, wenn folgende Kriterien erfüllt sind (32):

- Zirrhose mit Aszites (oder alkoholische Steatohepatitis)
- Serumkreatinin >1,5 mg/dl (>133mmol/l)
- keine Besserung des Serumkreatinin auf Werte < 1,5 mg/dl nach mindestens 2-tägiger Pausierung aller Diuretika und Volumenexpansion mit Albumin. Die empfohlene Albumindosierung beträgt 1g/kg Körpergewicht pro Tag bis zu einem Maximum von 100g/Tag.
- Ausschluss eines Schockgeschehens
- keine laufende oder kürzlich erfolgte Therapie mit nephrotoxischen Medikamenten
- Ausschluss einer parenchymatösen Nierenerkrankung (keine Proteinurie >500mg/Tag und
- unauffälliges Urinsediment und keine Mikrohämaturie >50 Erythrozyten/HPF und unauffällige Nierensonografie)

2.2.7.2. Therapie des hepatorenenal Syndroms Typ I

Zu den allgemeinen Maßnahmen der Therapie des HRS zählen eine Überwachung der Vitalparameter der Patienten sowie Kontrolle der organspezifischen Laborparameter. Ein weiterer wichtiger Aspekt ist die bilanzierte Flüssigkeitszufuhr, um eine Volumenbelastung und damit auch eine Verdünnungshyponatriämie zu vermeiden. Frühe Anzeichen für eine bakterielle Infektion sollten rechtzeitig erkannt und antibiotisch behandelt werden. Des Weiteren wird empfohlen, die diuretische Therapie zu pausieren (35). Zusätzlich zu allen unten genannten Therapien ist die Gabe von Humanalbuminfusionen mit der Dosierung 1g pro kg Körpergewicht bis zu einem Maximum von 100g/Tag empfohlen, zudem kann es bereits präventiv verwendet werden, um das effektive Blutvolumen anzuheben und so einem möglichen HRS Typ I vorzubeugen (3, 32). Dies kann es zum Beispiel in Fällen wie einer spontan bakteriellen Peritonitis oder bei einer Paracentese (51).

Die Therapie des HRS basiert neben der Gabe von Humanalbumin auf dem Einsatz von Vasokonstriktoren. Diverse Studien zeigten, dass Patienten die zusätzlich zur vasokonstriktorischen Therapie noch Albumin, zur Verbesserung des kolloidosmotischen Druckes und somit auch zur Erhöhung des intravasalen Volumenstatus, erhielten, deutlich besser auf die Therapie ansprachen und somit

auch eine verbesserte Überlebensrate vorweisen konnten (54, 62-67). Es zeigte sich in diversen Studien, dass die Nierenfunktion in 40-60% der Fälle, bei HRS Typ I, mit der Kombination eines Vasokonstriktors mit Albumin, wiederhergestellt werden konnte (3, 37, 68-70). Hierbei ist Mittel der ersten Wahl als Vasokonstriktor, bei Fehlen von Kontraindikationen, das Terlipressin (32).

Der Hauptmechanismus der Therapie mit Vasokonstriktoren basiert auf einer Verbesserung der systemischen Kreislauffunktion durch Vasokonstriktion des Splanchnikusgebietes und einer Erhöhung des mittleren arteriellen Druckes (1, 71). Hierbei ist der vasokonstriktorische Effekt auf das Splanchnikusgebiet höher als der Effekt auf die intrarenalen Gefäße (2, 3). Hierdurch wird die Nierenperfusion verbessert und das endogene RAAS heruntergeregelt, wodurch der vasokonstriktorische Effekt in der Niere nachlässt (50, 63, 68, 71-73). Die aktualisierte S2k Leitlinie empfiehlt zu Beginn den Einsatz von 2-4 mg Terlipressin pro Tag über mindestens 3 Tage (32). Anstelle von rezidivierenden Bolusgaben kann auch eine kontinuierliche Infusion von zu Beginn 3 mg über 24 Stunden angewendet werden (32). Die maximale Dosis von 12 mg/Tag sollte nicht überschritten werden (32). Cavallin et al. zeigten, dass die dauerhafte intravenöse Therapie der Bolustherapie überlegen ist, da die Patienten mit der kontinuierlichen Applikation weniger unerwünschte Nebenwirkungen aufwiesen (70). Die Therapie sollte für mindestens 3 Tage durchgeführt werden und nach maximal 14 Tagen beendet werden (66, 74). Als Nebenwirkungen dieser Therapie werden kardiovaskuläre, beziehungsweise ischämische Komplikationen, beschrieben, wobei zu erwähnen ist, dass die meisten Studien Patienten mit kardiovaskulären Vorerkrankungen ausschließen. Es empfiehlt sich, die Patienten im Hinblick auf kardiale Arrhythmien, Ischämien im Splanchnikusgebiet sowie den Extremitäten oder eine extreme Volumenbelastung zu beobachten (64, 66). Diese Nebenwirkungen wurden in einigen Untersuchungen bei bis zu 30% der Patienten beobachtet und können gegebenenfalls zu einem Beenden der Therapie führen (1, 56). Jedoch nur in 4% der Fälle musste die Therapie unterbrochen werden (1). Im Gesamten wird Terlipressin also gut vertragen, dies belegt auch die Meta-Analyse von Sagi et al. (74). Des Weiteren zeigen die Meta-Analysen der Terlipressintherapie eine deutliche Überlegenheit, hinsichtlich der Remission (46% vs. 11%) sowie der Mortalitätsrate (58% vs. 74%) gegenüber einer reinen Albumintherapie mit oder ohne Placebo (74, 75).

Eine weitere Möglichkeit der Therapie besteht in der Verwendung von Noradrenalin beziehungsweise Midodrine plus Octreotide. In beiden Therapien wird eine Verbesserung des arteriellen Druckes und der Nierenfunktion beschrieben, jedoch ist die Fallzahl in den Studien mit dieser Medikamentenkombination gering (35, 76). In den Studien wurde eine Dosierung des Noradrenalin von 0,5 mg/h als Dauerinfusion eingestellt und bei nicht adäquatem Ansprechen gesteigert auf bis zu 3 mg/h (66). Dies beschreibt auch eine Metaanalyse von Nassar Junior et al., in dieser wird gezeigt, dass Noradrenalin ein ähnliches Therapieansprechen in der Behandlung von Typ I und II aufweist wie Terlipressin. Es wird sogar vermutet, dass es zu weniger gravierenden Nebenwirkungen kommt (77). Vorausgesetzt wird jedoch ein intensivmedizinisches Monitoring mit arterieller Druckmessung sodass die Einsatzmöglichkeiten stark limitiert sind (32). Singh et al (2012), Dobre et al. und Alessandria et al. bestätigten, dass Noradrenalin genauso effektiv wie Terlipressin in der Behandlung ist und ein ähnliches Nebenwirkungsprofil besitzt, zudem jedoch kostengünstiger (78-80).

Die Kombination aus Midodrine und Octreotide wurde in einer Studie von Wong et al. verwendet, hierbei wurde beobachtet, dass es bei den Patienten zu einer Verbesserung, jedoch nicht Normalisierung der Nierenfunktion kam (73). Empfohlen wird am ersten Tag der Therapie mit 1g/kg (maximal 100g) zu starten, in den darauffolgenden Tage dann mit 20-40g/Tag fortzuführen (37, 54).

Das Therapieansprechen wurde folgendermaßen definiert:

1. Das vollständige Ansprechen ist definiert als ein Absenken der Kreatininkonzentration unter 1,5 mg/dl im Blut.
2. Das teilweise Ansprechen der Therapie ist definiert als eine Kreatininkonzentration über 1,5 mg/dl im Blut, jedoch eine Reduktion um über 50% vom Ausgangswert.
3. Therapieversagen wird definiert durch ein nicht-adäquates Absenken der Kreatininkonzentration unter Therapie innerhalb von 2 Wochen (3, 70, 81).

Ein vollständiges Therapieansprechen wurde in der Studie von Salerno et al. in 30% der Patienten gesehen, eine Studie von Nazar zeigte in 41% ein vollständiges Ansprechen (82), eine Studie durchgeführt von Narahara et al. konnte ein

Therapieansprechen von 75% innerhalb der HRS Typ I Kohorte vorweisen (83). Das Therapieansprechen wird demnach ebenfalls auf circa 40-60% geschätzt (1, 49, 84). Die Metaanalyse von Salerno et al. ergab, dass die Sterberate bei den Patienten trotz Therapie weiterhin bei circa 50% ist (54). Das Überleben bei Patienten, die auf die Therapie ansprechen, ist besser als bei denjenigen, die kein Ansprechen auf Vasokonstriktoren zeigen (49, 79). Eine Verbesserung der Nierenfunktion führt zu einem rückläufigen MELD-Score was die Wartezeit auf der Lebertransplantationsliste für diese Patienten verlängern kann (48). In diesem Rahmen wird diskutiert, ob ähnlich denjenigen Patienten mit HCC bei Patienten mit HRS eine Ausnahmeregelung für die Transplantationsvergabe hinzugefügt wird, z.B. durch die Vergabe von Sonderpunkten (66, 85).

Die nicht-medikamentöse Therapie beinhaltet verschiedene Verfahren:

Die Verwendung eines TIPS ist möglich sofern die Leberfunktion noch als ausreichend eingeschätzt wird. In diesem Fall kann durch eine TIPS-Anlage die Nierenfunktion der Patienten mit HRS Typ I und II verbessert und Aszitesentwicklung vorgebeugt werden (1, 2, 30, 49, 81, 86).

Maschinelle Nierenersatzverfahren sollten bei Patienten angewendet werden, die primär auf die medikamentöse Therapie nicht ansprechen und zugleich eine kurative Option durch eine Lebertransplantation haben (2, 49, 52, 81, 87). Zhang et al. beschreiben, dass es in ihrer Studie zu keinem Überlebensvorteil der Patienten mit HRS Typ I kam, die zur Nierenersatztherapie eine Therapie mit Vasokonstriktoren und Humanalbumin erhielten (87).

Der einzige kurative Ansatz des HRS Typ I und II ist die Lebertransplantation. Hierbei wird die zu Grunde liegende Lebererkrankung geheilt und in vielen Fällen auch das dadurch verursachte Nierenversagen zumindest partiell zurückgebildet (1, 45, 49, 83). Es wurde gezeigt, dass sowohl das Kurzzeit- als auch das Langzeitüberleben der Patienten, die vor der Transplantation medikamentös behandelt wurden, vergleichbar ist mit lebertransplantierten Patienten ohne zuvor aufgetretenem HRS (88). Die Studie von Restuccia et al ergab, dass die 3 Jahresüberlebensrate ihrer HRS-therapierten Lebertransplantationspatienten deutlich höher waren (100%), als bei denjenigen die keine Therapie vor Transplantation erhielten (60%) (88). Vergleichsweise dazu liegt die 3- Jahresüberlebensrate bei Patienten mit Lebertransplantation ohne vorangegangenes HRS bei 70-80% (89). Im Durchschnitt

liegt die Mortalitätsrate bei Patienten mit therapiertem HRS und Lebertransplantation auf dem Niveau von Patienten mit Lebertransplantation ohne vorangegangenes HRS (2, 25, 45, 88, 89). Dies untermauert auch die entscheidende Funktion der Niere im Outcome nach erfolgreicher Transplantation. Alleine durch die Transplantation zeigte sich eine Verbesserung der renalen GFR, die postoperativ nach 1-2 Monaten im Durchschnitt 30-40 ml/min betrug. Ebenso waren die Veränderungen im neurohormonalen Haushalt (unter anderem RAAS-System) nach dieser Zeit wieder normalisiert (2, 56, 89, 90). Kam es dementsprechend zu einer Rückbildung des HRS, so war die 1-Jahresüberlebensrate der Patienten mit Lebertransplantation bei 97%, in diesem Zeitraum blieb ebenfalls die Nierenfunktion konstant. Ein negativer Prädiktor für ein weiterhin bestehendes HRS, auch nach Transplantation, war eine präoperative über einen langen Zeitraum bestehende Hämodialysepflichtigkeit (90, 91). Die Ansprechrate und die Erholung vom HRS lag in dieser Studie bei 60% (90). Trotz der in vielen Fällen eingetretenen Verbesserung der Nierenfunktion nach Transplantation bleiben $\frac{1}{4}$ der Patienten dialysepflichtig (90). Eine gleichzeitige Leber- und Nierenorgantransplantation wird derzeit nicht empfohlen, da in Studien bisher kein überzeugender Überlebensvorteil der Patienten berichtet wurde, gegebenenfalls kann bei fortbestehendem Nierenversagen ohne Rückbildungstendenz nach einer Lebertransplantation eine sequentielle Nierentransplantation erfolgen (81).

2.2.6.3. Therapie des hepatorenenalen Syndroms Typ II

Wie bereits im Kapitel 2.2.6 erwähnt handelt es sich beim HRS Typ II um eine langsam eintretende renale Funktionseinschränkung die häufig mit einem therapierefraktären Aszites vergesellschaftet ist (92, 93). Um diesen zu kontrollieren, werden bisher die Möglichkeiten einer TIPS-Anlage, oder mehrfach durchzuführender Paracentesen in regelmäßigen Abständen mit Albuminsubstitution bei Entnahme größerer Aszitesmengen, empfohlen (32, 45, 47, 63). Mittels der TIPS kann die Rezidivrate des Aszites, sowie das Risiko ein HRS Typ I zu entwickeln, reduziert werden (45). Diese ist ebenfalls gegenüber rezidivierenden großvolumigen Paracentesen vorzuziehen (32). Wie bei den Patienten mit Typ I ist auch im Falle des HRS Typ II eine Lebertransplantation die einzige kurative Lösung. Eine klare Empfehlung hinsichtlich der Therapie mit Vasokonstriktoren besteht derzeit nicht (32). Bisher konnten keine Meta-Analysen zeigen, dass im Rahmen eines HRS Typ II die Anwendung von Vasokonstriktoren zu empfehlen ist, bisher zeigten sich diese nur im Rahmen des HRS Typ I (siehe Kapitel 2.2.7.2.). Eine Studie von Ghosh et al

wendete Terlipressin und Noradrenalin an ihrem Kollektiv HRS Typ II Patienten an. Hierbei konnte eine Ansprechrate von knapp 74% in beiden Gruppen erreicht werden. Hierbei scheint es, dass Noradrenalin ebenso wirksam wie Terlipressin sei, und ein ähnliches Nebenwirkungsprofil und Risiko aufweist (94). Im Rahmen dieser Studie wurden jedoch die Vasokonstriktoren nicht gegen die aktuellen Therapieempfehlungen untersucht (94). Die Studie von Rodriguez et al. postulierten, dass Patienten mit HRS Typ II keinen Vorteil durch eine Therapie mit Terlipressin und Albumin haben, insbesondere aufgrund hoher Rückfallquoten nach Therapieansprechen (92). Janicko et al. und Ghosh et al. berichten ebenfalls, dass es häufig nach Absetzen der Therapie mit Vasokonstriktoren zu einem Rückfall kommt (25, 94). Des Weiteren wird beschrieben, dass die Nierenfunktion und das Überleben ähnlich zu denen war, die keine Therapie mit den beiden genannten Medikamenten erhielten (92). In der bisher größten Studienkohorte mit HRS Typ II von Nguyen-Tat et al konnte in der Therapie mit Terlipressin und Albumin eine Ansprechrate von 46% erzielt werden, jedoch auch eine Rückfallquote von 50%. Im Vergleich dazu zeigten Patienten mit HRS Typ I ein ähnliches Ansprechen, jedoch eine Rückfallquote von 8% (93).

2.3. Apoptose

Bei der Apoptose handelt es sich um einen Vorgang der als programmierter Zelltod beschrieben wird und somit den Gegenpart zur Zellproliferation bildet (95). Die Zelle vollzieht einen Wandel, der über die Fragmentierung des Nucleus zu einem Zerfall in Partikel führt (95, 96). Diese werden im Anschluss durch Makrophagen abgebaut, jedoch ohne Entzündungsreaktion (95-97). Entscheidend bei der Einleitung der Apoptose sind die sogenannten Caspasen. Hierbei handelt es sich um Cysteinproteasen, die anhand von Aspartat-Resten Proteine spalten (96, 98). Sie gehören zur Familie der proteolytischen Enzyme. Grundsätzlich wird zwischen den Effektorcaspasen und den Initiatorcaspasen unterschieden. Die Aufgaben der Effektorcaspasen beinhalten die Spaltung von Reparaturenzyme, Mikrofilamentproteine oder Proteinkinasen (97) sowie der indirekte Abbau der DNA, durch die Inaktivierung eines DNaseinhibitors (99). Die Initiatorcaspasen sind Bestandteil der Aktivierung der Apoptose (100). Diese werden wiederum durch den TNFalpha-Rezeptorweg (extrinsischer Weg) oder auf dem mitochondrialen Weg (intrinsischer Weg) aktiviert (95).

Der extrinsische Weg läuft über die TNF-Rezeptor-Superfamilie, deren Bindung über entsprechende Liganden zu einer proteolytischen Aktivierung der Initiatorcaspase Procaspase 8 führt, die dann im Stande ist, Effektorcaspasen zu aktivieren (z.B. Caspase 3) (95, 97, 101).

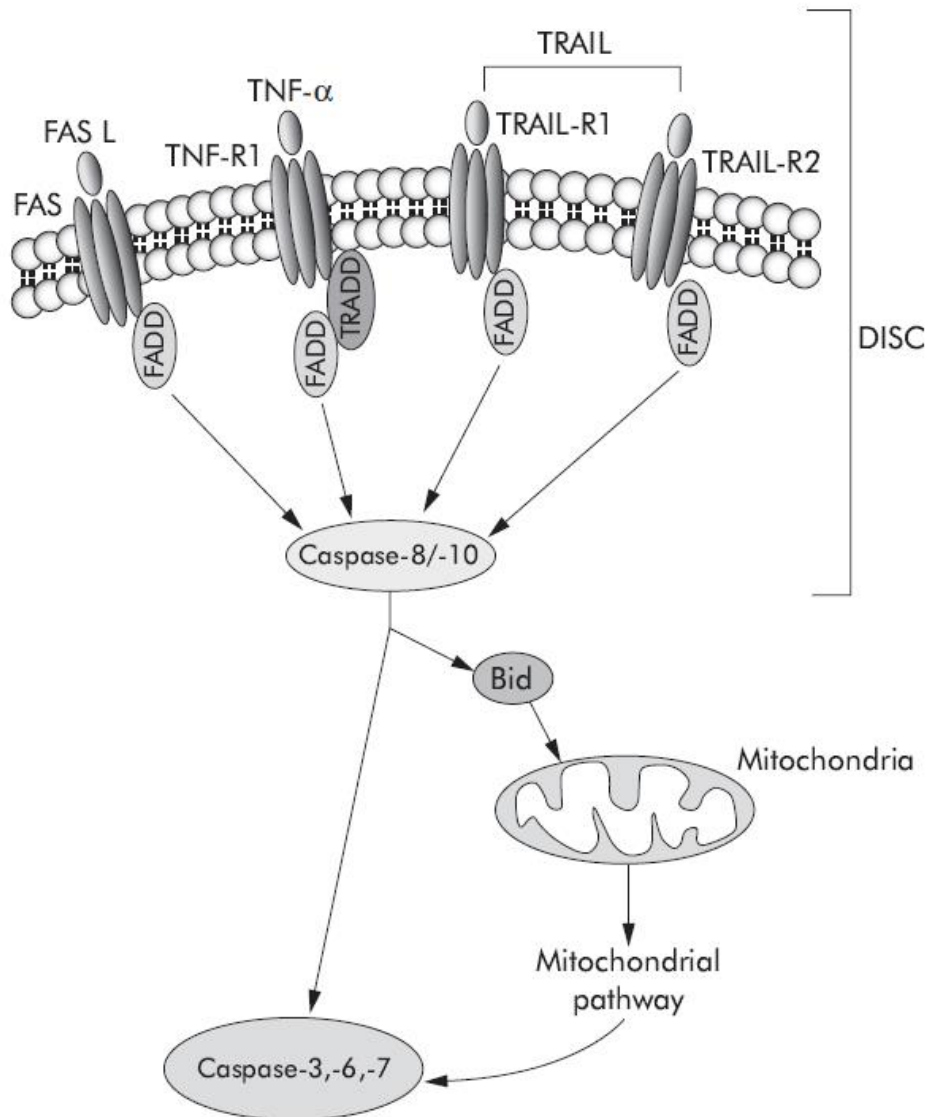


Abbildung 3 Schema des extrinsischen Weges der Apoptose modifiziert nach Guicciardi et al (95)

Der intrinsische Weg läuft über die Freisetzung von Cytochrom c aus den Mitochondrien, dass dann an einen Aktivierungsfaktor bindet und über Zwischenschritte Caspase 9 aktiviert die dann ebenfalls in der Lage ist, Effektorcaspasen, wie Caspase 3 und 7, zu initiieren (95, 96).

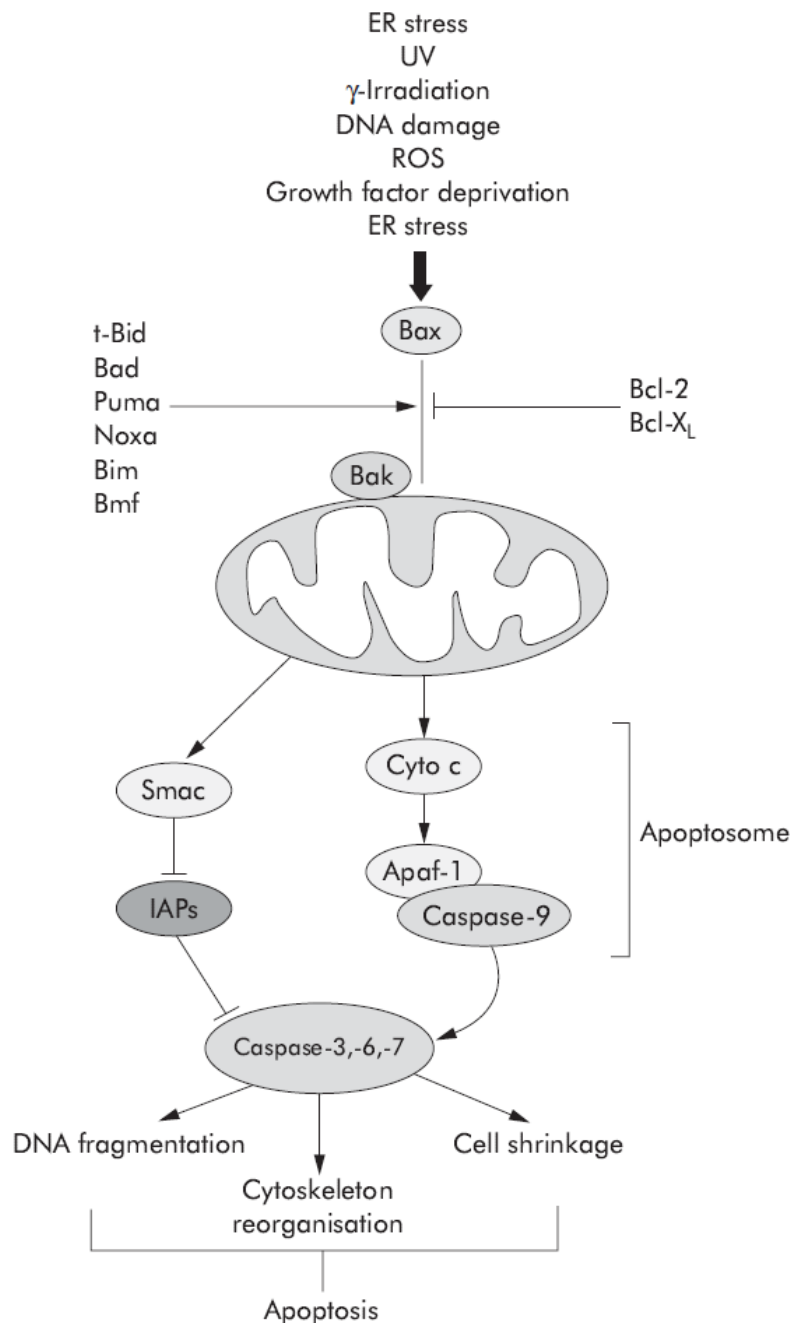


Abbildung 4 Schema des intrinsischen Weges der Apoptose modifiziert nach Guicciardi et al (95)

Ursächlich für die Initiierung der Auflösung der äußeren mitochondrialen Membran ist die Aktivierung verschiedener pro-apoptischer Signalmoleküle aus der Familie der Bcl-2 Proteine. Diese Signale liegen im Normalfall im Gleichgewicht mit anti-

apoptotischen Signalen, die ebenfalls durch Proteine der Bcl-2 Familie ausgelöst werden (96).

Vier der Todesrezeptoren (Rezeptoren die den programmierten Zelltod einleiten) und deren Liganden werden permanent in der Leber gebildet, hierzu zählen: TNF-R1, Fas, sowie DR4 und DR5 (96, 102, 103). Aufgrund der hohen Dichte an Todesrezeptoren (u.a. TNF-Rezeptoren) in der Leber erfolgt die Apoptose hauptsächlich über den extrinsischen Weg, jedoch sind die Mitochondrien über die Aktivierung von Bid ebenfalls an der Apoptose beteiligt (95). Eine Aktivierung der genannten Todesrezeptoren mündet in einen gemeinsamen Schritt, die Einbeziehung eines sogenannten Fas-assoziierten Protein, welches eine Todesdomäne besitzt, gemeinsam mit der Procaspase 8 (96). Dies führt wiederum zu einer Autoaktivierung mit dem Resultat der aktiven Caspase 8, die wiederum zum einen Caspase 3 oder 7 aktivieren oder den intrinsischen Weg auslösen kann (96, 104). Dies erfolgt durch die Spaltung des Bid-Protein, dessen Produkt zur äußeren Membran der Mitochondrien transportiert wird und somit deren Auflösung verursacht (96, 101, 103) . Anzumerken wäre noch, dass dieser Zusammenhang der beiden Apoptosewege über das Bid-Protein in Typ II Zellen vorkommt, zu denen auch die Hepatozyten zählen. Dieser Vorgang der Apoptose erfolgt in der Leber bei verschiedenen Erkrankungen, wie zum Beispiel viraler oder alkoholischer Hepatitis, cholestatischen Lebererkrankungen oder Leberversagen (96, 103).

2.3.1. Zytokeratin 18

Bei den Zytokeratinen handelt es sich um intermediäre Filamente. Diese werden von den Zellen gebildet, um mechanische Stabilität zu erlangen. Die Grundstruktur dieser Filamente bilden alpha-helicale Moleküle. Durch Dimerbildung und weiterer Polymerisation entstehen letztendlich Filamente. Die verschiedenen Keratine werden unterschiedlich aus den zwei Unterkategorien, in den Epithelzellen, gebildet. Hierbei werden zwei Gruppen unterschieden, Typ I Keratine, die die Keratine 9 bis 23 beinhalten und vom Typ eher azid sind, und Typ II Keratine, zu denen die Keratine 1 bis 8 gehören und die vom Typ eher basisch sind (105-107). In den Hepatozyten bildet sich das Intermediärfilamentgerüst aus dem Paar K8/K18. Bei dem Zytokeratin 18 handelt es sich um ein Filament das ungefähr 5% des gesamten Proteingehalts der Leber, des Pankreas und anderen epithelialen Geweben ausmacht (105). Dadurch, dass es ein Hauptbestandteil des Zytokeratingerüst der Hepatozyten ausmacht, ist es ebenfalls einer der am meisten verwendeten Substrate der

Caspasen, die während der Apoptose in den Leberzellen abgebaut werden (105). Dabei entsteht am Zytokeratin 18 ein neues Epitop, das durch die Antikörper M30 gebunden wird. Dieses Epitop entsteht nur während der Apoptose, ist somit also bei lebenden oder von Nekrose betroffenen Zellen nicht nachweisbar (107, 108). Dieses Epitop, das durch M30 erkannt wird, endet mit der Asparaginsäure 396. Die Spaltung und Bildung dieses Neoepitops erfolgten in frühen Phasen der Apoptose durch die Caspase 9, in der zweiten Phase dann durch die Caspasen 3 und 7 (109, 110). Durch sekundäre Nekrose zerfällt der Zellverband und somit wird das lösliche K18 Fragment in den Extrazellularraum freigelassen (110).

2.3.2. Tissue polypeptide-specific antigen (TPS)

Bei dem TPS handelt es sich um ein Fragment des Zytokeratin 18 (107). Dieses kann zur Diagnose, Prognose und Verlaufskontrollen von Lebererkrankungen verwendet werden. Die meisten Studien untersuchten bisher diesen Parameter an Patienten mit alkoholischer Leberschädigung (111-114). Dieser Marker wurde unter anderem in der Studie von Tarantino et al verwendet und beabsichtigt ebenfalls die Leberzellschädigung abzuschätzen (115).

2.3.3. Einsatz von M30 und M65 in aktuellen Studien

Sowohl M30 als auch M65 sind derzeit Gegenstand der Forschung im Bereich der Lebererkrankungen unter anderem zur Einschätzung der Schwere sowie der Prognose dieser (116). Da die Hepatozyten Zytokeratin 18 in großen Mengen produzieren, besteht die Hoffnung aufgrund der Zytokeratin 18- Biomarker Rückschlüsse auf Lebererkrankungen und ihren Verlauf ziehen zu können sowie mögliche Komplikationen abzuschätzen. Bei M30 handelt es sich um eine ELISA-Bestimmung des im Rahmen der Apoptose gespaltenen Zytokeratin 18, das M65 misst mittels ELISA die Konzentration des ungespaltenen und gespaltenen Zytokeratin 18 im Serum welches im Rahmen unterschiedlicher Zelltodursachen auftreten kann (116). Da es sich bei beiden um im Serum bestimmbare Parameter handelt, könnten in Zukunft invasive Diagnostikschritte in den Hintergrund rücken.

Ob diese Tests als Alternative für invasive Diagnostik sinnvoll sind wurden durch die verschiedensten Arbeitsgruppen im Bereich der unterschiedlichen Ätiogenesen untersucht. Hierbei wurden diversen Fragestellungen, die im Rahmen der Diagnostik und Therapie der Leberzirrhose auftauchen, bearbeitet.

Im Rahmen der toxischen Genese bearbeiteten die Kollegen um Yilmaz et al die Fragestellung der Differenzierung zwischen nicht-alkoholischen Steatohepatitis und

einfachen Fettleber. Sie konnten zeigen, dass mit Hilfe des Zytokeratin 18 die Möglichkeit besteht, zwischen nicht-alkoholischer Steatohepatitis und der einfachen Fettleber zu unterscheiden und mit dem M30/M65 Kit ein zuverlässiger nicht-invasiver Serumbiomarker zur Verfügung steht und somit die invasive Leberbiopsie möglicherweise bei dieser Fragestellung in den Hintergrund tritt (108).

Joka et al. setzten sich als Ziel ihrer Studie herauszufinden, ob die Möglichkeit besteht anhand der Zelltodbiomarker eine Leberfibrose und nicht alkoholische Steatohepatitis vorherzusagen. Sie entdeckten, dass die Höhe von M30 und von M65 mit dem Fibrosegrad in der Leber assoziiert ist. M30 war im Gegensatz zu M65 jedoch nicht in der Lage niedriger von moderater Leberfibrose zu unterscheiden. Prinzipiell konnten sie außerdem nachweisen, dass sowohl M30 als auch M65 bei Patienten mit Lebersteatosis im Vergleich zu gesunden Probanden erhöht waren. Hierbei zeigte M65 ebenfalls eine höhere Sensitivität bei ähnlicher Spezifität als M30, bei der Entdeckung von Lebersteatose mit mehr als 10%. Somit kommen sie zu dem Schluss, dass M65 sowohl für die Detektion einer Steatose und Fibrose als auch bei der Fibrosegradeinschätzung dem M30 überlegen ist (4).

Wieckowska et al. untersuchten ob mit Hilfe des M30 Biomarkers der Schweregrad einer NAFLD einzuschätzen sei. Da bisher nur die Leberbiopsie als validierter Test zur Diagnosesicherung einer NASH herangezogen werden kann, wäre eine nicht-invasive Methode von klinischer Relevanz. Zusammengefasst kamen sie zu dem Schluss, dass mit Hilfe der Zelltodmarker ein zuverlässiger Parameter gefunden wurde, der bei Patienten mit Verdacht auf NAFLD unterscheiden kann, ob es sich hierbei um eine NASH handelt oder nicht (6).

Tarantino et al. untersuchten das Zytokeratin 18 (Tissue polypeptide –specific antigen) an einer Kohorte von Patienten mit NASH im Vergleich zu Patienten mit reiner Fettleber und einer Kontrollgruppe von Freiwilligen. In ihrer Studie kamen sie zu dem Ergebnis, dass das TPS ein besserer, nicht-invasiver Marker als die ALT oder der Ultraschall beziehungsweise einer Kombination aus beiden sei, um eine NASH von einer reinen Fettleber zu unterscheiden. Sie räumen aber ein, dass anhand der schwachen Korrelation eine Verwendung als Fibrosemarker fragwürdig ist. Ihre Haupthypothese ist, dass durch die NASH und ihre Apoptose bzw. Nekrose ein Reparaturprozess eingeleitet wird, der zu einer Erhöhung des TPS führt. Normwertige Leberenzyme bei erhöhten TPS-Werten würden bedeuten, dass die Reparaturvorgänge noch die Destruktion überwiegen (115).

In einer weiteren Studie untersuchten Waidmann et al. ob die Prognose der Leberzirrhose anhand der Biomarker abgeschätzt werden kann. Hierbei verwendeten sie eine modifizierte Version des M65, das M65EpiDeath. Dieser verwendet im Unterschied zum normalen M65 (s. Kapitel 3.5.) den M5 Antikörper zur Plattenbeschichtung, der M6 Antikörper wird nach der Probe hinzugegeben. Dies erhöht die spezifische Bindungskapazität und führt zu niedrigeren Messwerten in gesunden Probanden (117). Sie konnten zeigen, dass eine hohe Konzentration des M65EpiDeath mit einer hohen Mortalität, vor allem in den ersten Monaten einhergeht, aber auch, dass selbst Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose, die prinzipiell eine bessere Prognose besitzen, mit hohen M65EpiDeath-Konzentrationen ein höheres Mortalitätsrisiko als Patienten mit niedrigeren M65EpiDeath-Konzentrationen aufweisen. Sie beschreiben auch, dass M65EpiDeath einer der geeignetsten Parameter gewesen sei, um zwischen Patientenkollektiven mit SBP oder HRS und einem Patientenkollektiv mit Leberzirrhose ohne Komplikationen zu differenzieren. Der Ursprung der Serum M30/M65 Werte konnte jedoch nicht ermittelt werden und es wird darauf verwiesen, dass sie auch von Epithelzellen stammen kann, die nicht hepatischen Ursprungs seien, wie zum Beispiel Lungenepithelzellen bei Infektionen oder Karzinomen. Somit handelt es sich bei dem M65EpiDeath-Biomarker um einen Parameter, der zum Einen mit der Schwere der Leberzirrhose assoziiert ist und zum Anderen die Prognose vor allem in Niedrigrisikogruppen abschätzen lässt (116).

Craig et al. untersuchten die Zelltodbiomarkern bei Patienten mit akuten Leberschädigungen (acute liver injury; ALI). Sie konnten zeigen, dass sowohl die apoptotischen als auch die nekrotischen Zelltodbiomarker bei Patienten mit akuter Leberschädigung erhöht waren. M65 war bei Patienten mit paracetamolinduzierter Leberschädigung höher als bei Patienten mit anderen Leberschädigungen. M30 erlaubte keinerlei Unterscheidung zwischen den beiden Subgruppen der akuten Leberschädigung. In dieser Studie ließ ebenso keiner der Biomarker einen Rückschluss auf die Überlebensprognose oder die Notwendigkeit einer Organtransplantation zu (118).

Gonzalez-Quintela et al. untersuchten die Zytokeratin 18 Spiegel im Serum bei Patienten mit ethyltoxischer Lebererkrankung. Verglichen wurden Patienten mit alkoholtoxischer Leberschädigung, Patienten mit einer malignen Entartung und gesunde Kontrollprobanden. Sie zeigten, dass die Serumspiegel dieser Biomarker

bei Patienten mit ethyltoxischer Genese ihrer Lebererkrankung, im Vergleich zu den Patienten mit malignen Grunderkrankungen sowie den gesunden Probanden, höher sind (119).

Die Zelltodbiomarker wurden versuchsweise in der Tumordiagnostikforschung angewendet, hierbei nutzten Waidmann et al. diese epithelialen Marker mit der Absicht, einen diagnostischen Marker für die Früherkennung eines HCC zu finden. Hierbei fanden sie in einer Kohorte von Patienten mit HCC und Patienten mit Leberzirrhose heraus, dass M65 unabhängig von dem gängigen Tumorfaktor AFP zwischen Patienten mit HCC und reiner Leberzirrhose unterscheiden konnte (120). In Kombination mit der Ultraschalluntersuchung konnten diese Diskriminierung nochmals gesteigert werden. Des Weiteren stellten sie fest, dass M65 der Früherkennung des HCC in Kombination mit AFP dem M30 überlegen ist. Hierbei konnten 50-70% der HCC Patienten identifiziert werden. Die Autoren verweisen darauf, dass auch andere gastrointestinale Tumore erhöhte Werte von M30 und M65 erzeugen können und somit der prognostische Faktor für das HCC speziell limitiert sein kann (120).

Mehrere Arbeitsgruppen beschäftigten sich ebenfalls mit der Ätiogenese der viralen Hepatitiden und nachfolgenden Leberzirrhose.

Kronenberger et al. untersuchten anhand einer Kohorte mit chronischen Hepatitis C Patienten, ob das apoptotisch gespaltene Zytokeratin 18 besser als Transaminasen den inflammatorischen Status der Leber abschätzen kann. Diese Studie zeigte, dass Patienten mit chronischer Hepatitis C ein höheres Level an gespaltenem Zytokeratin 18 besitzen im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden. Zudem erkannten sie, dass eine starke Korrelation zwischen dem Zytokeratin 18 und der GOT bestehe, deren Freisetzung durch die mitochondriale Membranperforation während der Apoptose zu erklären sei. Des Weiteren kommen sie zu dem Schluss, dass die Apoptose und Caspasenaktivierung, die gemeinsam zu einem erhöhten inflammatorischen Zelltod führen, ein wichtiger Bestandteil in der Entwicklung einer Fibrose in Patienten mit chronischer Hepatitis C sei. Sie beobachteten außerdem, dass Patienten mit normalen GPT-Werten ebenfalls ein niedriges Level an gespaltenem Zytokeratin 18 besitzen, und befürworten daher die Theorie, dass Patienten mit normalen GPT-Werten sich auf einem geringeren Entzündungsniveau befinden als Patienten mit erhöhten GPT-Werten und somit auch weniger Fibrose bilden. Dennoch haben sie einen höheren Zelluntergang (höheres Zytokeratin 18) als

Gesunde. Somit kommen sie zu dem Schluss, dass chronische Hepatitis C Patienten insgesamt einem erhöhten Leberzelluntergang durch Apoptose unterliegen (121).

Bantel et al. analysierten M30-Konzentrationen in Seren von Patienten mit chronischer HCV-Infektion, nachdem sie bereits in einer vorhergehenden Studie zeigen konnten, dass eine erhöhte Caspasenaktivität in HCV-infizierten Leberbiopsien vorhanden ist. Sie konnten zeigen, dass die M30-Konzentrationen mit den Stadien der Fibrose korrelieren. Innerhalb des gewählten Patientenkollektivs mit normwertigen Lebertransaminasen sowie chronischer Hepatitis C Infektion zeigten 56% erhöhte Konzentrationen des Zytokeratin 18-Fragments. Zur Erhöhung der Anzahl fügten sie weitere Patienten mit chronischer HCV Infektion und normalen Transaminasen hinzu um daraufhin den Fibrosegrad näher zu betrachten. In diesem zweiten Kollektiv zeigte sich bei circa 30% der Patienten mit erhöhter Caspasenaktivität ein fortgeschritteneres Stadium der Fibrose. Diejenigen mit geringer Caspasenaktivitäten wiesen hingegen eine gering ausgeprägte Fibrose vor (5).

Eren et al. bestimmten die M30 Werte an einer chronischen Hepatitis B Kohorte. In dieser Kohorte zeigte sich eine Tendenz zu erhöhten M30-Serumkonzentrationen bei der chronisch aktiven Hepatitis B. Jedoch ließ sich kein Rückschluss von M30-Werten auf den HBeAg- Status ziehen. Zudem scheint es so, als stehe die Apoptose bei inaktiven HBV-Träger nicht im Vordergrund (122).

3. Material und Methoden

Tabelle 5 Tabellarische Darstellung der verwendeten Materialien

Gerät	Firma	Spezifischer Name
ELISA-Kit	Peviva	M30 Apoptosense®
ELISA-Kit	Peviva	M65®
Zentrifuge	Hettich Zentrifugen	Universal 320R
Pipette	Gilson	Piperman 100-1000µl
	Gilson	Piperman 20-200µl
Multipipette		
Pipettierhilfe	ThermoFisher Scientific	S1 Pipet Filler
	Integra	Pipetboy
Pipettenspitzen	Nerbe plus	20µl 1000µl
Eppendorf-Röhrchen	Hartenstein	Volumen 1,5ml
Laborkühlschrank	ThermoFisher Scientific	Herafreeze
ELISA-Reader	Tecan	Sunrise™
ELISA-Programm	Magellan	Magellan5
SPSS	IBM	SPSS 22 SPSS 23
Serum Röhrchen	Serum Röhrchen der Universitätsmedizin Mainz 7,5 ml	

3.1. Patienten

Das in den experimentellen Versuchen verwendete Patientenkollektiv wurde über einen Zeitraum von zweieinhalb Jahren in der Zeit von April 2013 bis Oktober 2015 an der Universitätsmedizin Mainz erfasst. Die prospektive Kohortenstudie wurde im Rahmen der ethischen Prüfung durch die Ethikkommission der rheinlandpfälzischen Landesärztekammer genehmigt und unter Beachtung aller relevanten Datenschutzkriterien sowie in Anlehnung an die Deklaration von Helsinki umgesetzt (Aktenzeichen 837.052.12 (8153)). Die Fallgruppe beinhaltet Patienten mit der Diagnose eines hepatorenalen Syndroms bei Leberzirrhose mit daraus folgender Terlipressintherapie. Die Diagnose und Therapie wurde hierbei durch den behandelnden Arzt, nach den zu diesem Zeitpunkt bestanden Kriterien und Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten sowie der Clinical practice guidelines der EASL, festgelegt (31, 35). Die erhobenen Daten sind in Tabelle 6 und 7 dargestellt. Die Patienten der Fallkohorte (n=65) wurden während eines stationären Aufenthaltes nach entsprechender Aufklärung und schriftlicher Einwilligung eingeschlossen. Ein

Patientenalter unter 18 Jahren sowie die Ablehnung der Studienteilnahme schloss eine Studienteilnahme von Beginn an aus. Die Kontrollkohorte (n=47) setzt sich aus Patienten zusammen, die sowohl stationär als auch über die ambulante Leberzirrhosesprechstunde der Universitätsmedizin Mainz eingeschlossen wurden. Einschlusskriterien waren bei dieser Gruppe die gesicherte Diagnose einer Leberzirrhose ohne akute Dekompensation der Lebererkrankung (kein HRS, keine Blutung). Ausschlusskriterien der späteren Auswertung waren in beiden Gruppen das Vorhandensein eines primären Leberzellkarzinoms (HCC). Eine schematische Darstellung des Ablaufes zeigt die Abbildung 5.

3.2. Klinische Parameter

Bei allen Patienten wurde der klinische Verlauf, insbesondere das Auftreten von Komplikationen, relevante Laborparameter sowie klinische Parameter wie die Überlebenszeiten erfasst. Zunächst einmal die biografischen und ätiologischen Parameter der beiden Kollektive:

- Alter
- Geschlecht
- Ätiologie der Leberzirrhose
- HRS Episode
- Erstdiagnose der Leberzirrhose
- Einschlussdatum in die Studie

In beiden Kollektiven wurden jeweils zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme als auch der Entlassung zusätzlich noch laborchemische sowie erkrankungsdefinierende Parameter erhoben:

- Vorhandensein eines HCC
- Florider Alkoholabusus
- HRS Typ I oder II
- LTX-Kandidat
- Kreatininkonzentration in mg/dl
- Bilirubinkonzentration in mg/dl
- INR
- Albumin-Konzentration in g/l
- Grad der hepatischen Enzephalopathie
- Menge des Ascites
- Child-Pugh-Score
- MELD-Score

- CRP-Konzentration in mg/dl
- Leukozytenkonzentration in /nl
- M30/M65 Konzentration bei Aufnahme beziehungsweise vor Terlipressingabe in U/l

Speziell in der HRS-Kohorte wurden weitere Parameter erhoben, um innerhalb der Kohorte Vergleiche anzustreben:

- Kreatininkonzentration bei Terlipressintherapiestart in mg/dl
- Kreatininkonzentration bei Terlipressintherapieende in mg/dl
- Harnstoffkonzentration bei Terlipressintherapiestart in mg/dl
- Harnstoffkonzentration bei Terlipressintherapieende in mg/dl
- Leukozytenkonzentration bei Terlipressintherapiestart in /nl
- MELD-Score bei Terlipressinstart
- Dauer der Terlipressintherapie in Tagen
- Menge des verwendeten Terlipressins pro Patient in mg
- Eventuelles Todesdatum
- Ansprechen auf Therapie , aufgeteilt in partielles Ansprechen, komplettes Ansprechen und gesamtes Ansprechen (ohne Hämodialyse im selben Aufenthalt)
- Datum einer potentiellen Hämodialyse, TIPS-Anlage oder Lebertransplantation

HRS Kohorte:

Stationäre Aufnahme des Patienten mit Einschätzung, Diagnosestellung sowie Festlegung der Therapie des HRS durch einen erfahrenen/e Arzt/Ärztin nach klinischem Standard (mit Einwilligung zur freiwilligen Teilnahme an unserer Studie, kein Studienarzt)



Entnahme von Serumproben vor Einleitung der Therapie im Rahmen der üblichen stationären Blutentnahme (Einfrieren der Proben binnen 30 Minuten nach Entnahme)



Einleitung der Therapie entsprechend den Leitlinien



Einschätzen des Therapieerfolges entsprechend den Kriterien der Leitlinie



Bei Erfolg sowie Erreichen aller Entlasskriterien → Entlassung des Patienten

Kontroll-Kohorte:

Akquise der Patienten im Rahmen des stationären Aufenthaltes sowie der ambulanten Leberzirrhosesprechstunde der Universitätsmedizin Mainz (mit Einwilligung zur freiwilligen Teilnahme an unserer Studie, kein Studienarzt)



Entnahme von Serumproben im Rahmen der üblichen stationären/ambulanten Blutentnahme (Einfrieren der Proben binnen 30 Minuten nach Entnahme)

Abbildung 5 Schematische Darstellung des Ablaufes

3.3. Probenvorbereitung

Im Rahmen der täglichen Blutentnahmen wurde zu Studienzwecken ein Serum-Röhrchen mit 7,5ml Füllmenge zusätzlich abgenommen. Zunächst wurde die Probe in dem Serumröhrchen bei 4°C und 3000 rpm mit der Zentrifuge Universal 320R der Firma Hettich Zentrifugen für 10 Minuten zentrifugiert. Das gewonnene Serum von circa 3 ml wurde daraufhin auf jeweils 1ml große Eppendorfröhrchen aliquotiert. Diese wurden dann mit einer internen Kennung bestehend aus einem Buchstaben für die jeweilige Patientengruppe sowie einer fortlaufenden Nummerierung versehen. Diese Pseudonymisierung konnte über eine zusätzliche Verschlüsselung dann mit den Patientendaten abgeglichen werden. Die Proben wurden daraufhin zur Aufbewahrung in einen Gefrierschrank mit -76°C gelagert, bis zum Beginn der Versuche.

3.4. M30

Zur Bestimmung der Konzentration des Caspase-gespaltenen Zytokeratin 18 wurde das M30 Apoptosense® ELISA-Kit, aus der Produktserie Peviva der Firma VLVbio (Schweden) verwendet. Die Platte ist bereits mit einem monoklonalen Mausantikörper M5 beschichtet, der gegen das Zytokeratin 18 gerichtet ist. Nach Hinzufügen der Proben, wird ein weiterer monoklonaler Mausantikörper verwendet, an dem eine Meerrettichperoxidase gekoppelt ist. Der M30-Antikörper erkennt das durch die Caspasen gespaltene K18 an seinem neuen Epitop an der Stelle Asp396. Nach mehreren Waschvorgängen werden ungebundene Antikörper entfernt. Zur Quantifizierung wurde das TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine) verwendet. Hierbei bindet das TMB an die Meerrettichperoxidase und führt zu einer blauen Färbung der Probe. Nach einer entsprechenden Inkubationszeit und Hinzugabe der Stopplösung entsteht eine gelbe Färbung. Die Farbentwicklung wird dann mittels eines ELISA-Readers anhand der Absorption quantifiziert, und verhält sich dann proportional zur vorhanden M30-Konzentration. Somit lässt sich also ein Rückschluss auf den Gehalt an gespaltenem K18 ziehen (110, 118).

3.5. M65

Zur Bestimmung der Konzentration des gesamten Zytokeratin 18 wurde das M65® ELISA-Kit, aus der Produktserie Peviva der Firma VLVbio (Schweden) verwendet. Die Platte dieses Kits ist bereits mit einem monoklonalen Mausantikörper M6 beschichtet, der gegen ein Epitop des Zytokeratin K18 gerichtet ist. Nach Hinzufügen der Proben, Standards und Kontrollen wird ein weiterer monoklonaler

Mausantikörper M5 hinzugegeben, der mit einer Meerrettichperoxidase konjugiert ist. Im Rahmen des Versuchsaufbaus des M30 fungiert der M5 Antikörper als „Catch-Antikörper“, bei M65 als „Detection-Antikörper“. Sowohl der Mausantikörper M5 als auch M6 binden an Epitope zwischen den Aminosäuren 300 und 380 des Moleküls Zytokeratin 18 (s. Abbildung 6). Nach mehreren Waschvorgängen werden ungebundene Antikörper entfernt. Zur Quantifizierung wurde das TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine) verwendet (s. Kapitel 3.4). Die Farbentwicklung wird dann mit Hilfe eines ELISA-Readers anhand der Absorption quantifiziert, und verhält sich dann proportional zur vorhandenen M65-Konzentration. Somit lässt sich also ein Rückschluss auf den Gesamtgehalt des Zytokeratin 18 ziehen, welches durch Apoptose und oder Nekrose freigesetzt wird (117, 118, 123).

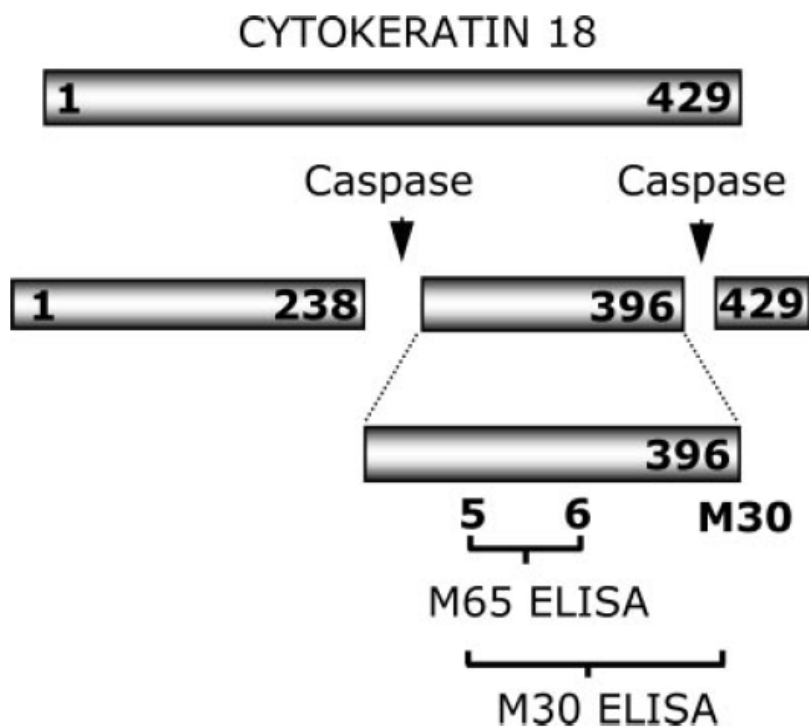


Abbildung 6 Zytokeratin 18 und die Bindungsstellen von M5, M6 und M30 modifiziert nach Kramer et al. (121)

3.6. Probenanalyse (ELISA)

15-20 Minuten vor Beginn der Versuchsreihe wurden die Aliquots zum Auftauen aus dem Gefrierschrank genommen. Die Proben wurde daraufhin zentrifugiert und anhand der vorher angefertigten ELISA-Tafel in die entsprechenden Vertiefungen der 96-well Platte pipettiert. Es wurden insgesamt zwei verschiedene ELISA-Kits verwendet:

a) M30

b) M65

Die zwei erwähnten ELISA-Kits wurden sowohl auf die Fall- als auch auf die Kontrollgruppe angewendet.

A) Der M30 Apoptosense® ELISA muss bei Raumtemperatur ($24\pm 3^{\circ}\text{C}$) durchgeführt werden.

1. Vor der Durchführung sollten alle Materialien auf Raumtemperatur gebracht und gemischt werden
2. Die Waschlösung herstellen mittels Wash Tablet in frisch deionisiertem Wasser auflösen (siehe Kapitel Verdünnung der Komponenten der beiliegenden Anleitung).
3. M30 Conjugate mit dem M30 Conjugate Dilution Buffer verdünnen und mischen. (siehe Kapitel Verdünnung der Komponenten der beiliegenden Anleitung)
4. 25 µl M30 Standard (A–G), M30 Control Low, M30 Control High oder Probe pro Mulde pipettieren (Duplikate anlegen).
5. Zugabe von 75 µl der verdünnten M30 Conjugate-Lösung zu jeder Mulde.

Die Schritte 4 und 5 mussten ohne Unterbrechung aufeinander folgend innerhalb von 20 Minuten durchgeführt werden.

6. Mulden mit dem Sealing Tape abdecken.
7. Vier Stunden auf dem Schüttler inkubieren (Geschwindigkeitseinstellung: 600 U/min).
8. Die Mikrotiterplatte von Hand waschen: Inkubationslösung verwerfen und die Mulden fünf Mal mit 200 µl verdünnter WashSolution waschen. Kreuzkontamination zwischen den Mulden vermeiden.
9. Zugabe von 200 µl TMB Substrate zu jeder Mulde. Im Dunkeln bei Raumtemperatur 20 Minuten inkubieren.
10. Zugabe von 50 µl der Stop Solution zu jeder Mulde. Mikrotiterplatte 5–10 Sekunden schütteln, um TMB Substrate und Stop Solution vollständig zu vermischen. Mikrotiterplatte vor Ablesen der Absorption 5 Minuten stehen lassen.
11. Bestimmung der Absorption bei 450 nm in einem Absorptionslesegerät für

Mikrotiterplatten innerhalb von 30 Minuten und Aufzeichnen der Ergebnisse.

12. Berechnen der Ergebnisse wie im Abschnitt Berechnung der Analyseergebnisse der beiliegenden Anleitung beschrieben (110)

B) M65®ELISA muss bei Raumtemperatur ($24\pm 3^{\circ}\text{C}$) durchgeführt werden.

1. Vor der Durchführung sollten alle Materialien auf Raumtemperatur gebracht und gemischt werden
2. Die Waschlösung herstellen mittels Wash Tablet in frisch deionisiertem Wasser auflösen (siehe Kapitel Verdünnung der Komponenten der beiliegenden Anleitung).
3. M65 HRP Conjugate mit M65 Conjugate Dilution Buffer verdünnen und mischen (siehe Kapitel Verdünnung der Komponenten der beiliegenden Anleitung).
4. 25 μl M65 Standard (A–G), M65 Control Low, M65 Control High oder Probe pro Mulde pipettieren (Duplikate anlegen).
5. 75 μl der verdünnten M65 HRP Conjugate-Lösung zu jeder Mulde hinzugeben.

Die Schritte 4 und 5 mussten aufeinander folgend, ohne Unterbrechung, innerhalb von 20 Minuten ausgeführt werden.

6. Mulden mit dem Sealing Tape abdecken.
7. 2 Stunden auf dem Schüttler inkubieren (Geschwindigkeitseinstellung: 600 U/min).
8. Die Mikrotiterplatte von Hand waschen: Inkubationslösung verwerfen und die Mulden 5 Mal mit 200 μl verdünnter Wash Solution waschen. Kreuzkontamination zwischen den Mulden vermeiden.
9. 200 μl TMB Substrate zu jeder Mulde hinzugeben. Im Dunkeln bei Raumtemperatur 20 Minuten lang inkubieren.
10. 50 μl der Stop Solution pro Mulde hinzugeben. Mikrotiterplatte 5–10 Sekunden schütteln, um TMB Substrate und Stop Solution vollständig zu vermischen. Mikrotiterplatte vor der Absorptionsmessung 5 Minuten stehen lassen.
11. Absorption bei 450 nm in einem Absorptionsmessgerät für Mikrotiterplatten innerhalb von 30 Minuten bestimmen und Ergebnisse aufzeichnen.
12. Berechnen der Ergebnisse wie im Abschnitt Berechnung der Analyseergebnisse der beiliegenden Anleitung beschrieben (123)

Die Bestimmung einiger Proben der HRS Kohorte gelang nicht im ersten Messdurchgang, da die Messwerte außerhalb der Standardreihe lagen (M30 und

M65 Reihe jeweils 10,8%). Hierfür wurden die Proben dann verdünnt, um sie in einer erneuten Messung bestimmen zu können. Die ermittelten Messwerte wurden daraufhin mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert, um die jeweilige M30/M65-Konzentration zu ermitteln. Seitens der beiliegenden Anleitung wurde empfohlen bei Proben die außerhalb der Standardkonzentration von 1000 U/l sich befinden mit der Standardkonzentration 0 U/l zu verdünnen. Da die Verdünnung im Versuch linear ist, kann über die Multiplikation mit dem Verdünnungsfaktor die Originalkonzentration bestimmt werden (123).

3.7. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung und die Erstellung der Grafiken im Ergebnisteil erfolgten mit dem SPSS-Programm v. 22 und v.23. Ebenso wurde eine Einführung in die Benutzung des Programms von dem Institut für medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik der Universitätsmedizin Mainz angeboten und wahrgenommen.

Im Rahmen der univariaten Analysen wurde zunächst auf eine Normalverteilung der Parameter überprüft, falls diese vorlag wurde der T-Test verwendet. Hierbei wurde der Test für unabhängige oder verbundene Stichproben verwendet je nach Fragestellung. Bei Vorliegen von mehr als zwei kategorialen Variablen wurde der Chi-Quadrat Test nach Pearson verwendet. Bei nicht Vorhandensein einer Normalverteilung wurde zur Berechnung des p-Wertes der Mann-Whitney U Test angewandt. Bei verbundenen Stichproben die nicht normalverteilt waren wurde der Wilcoxon Vorzeichenrangtest verwendet. Zur Korrelationsstatistik wurde, bei nicht vorhandener Linearität, der Test von Spearman-Rho verwendet, die Interpretation erfolgte nach Cohen (1988). Für die Überlebenszeitanalyse wurde der log-rank nach Breslow verwendet, da dieser frühere Ereignisse mehr gewichtet.

4. Ergebnisse

4.1. Patientencharakteristika der beiden Kollektive HRS und non HRS

4.1.1. Ätiologische und biografische Daten der Patientenkollektive

Tabelle 6 Ätiologische und biografische Daten der Patientenkollektive (Mann-Whitney-U Test, Chi-Quadrat Test)

	Leberzirrhose mit HRS n = 65 (%)	Leberzirrhose ohne HRS n = 47 (%)	p-Wert
Geschlecht – no. (%)			
Männlich	41 (63,1)	28 (59,6)	p=0,70
Weiblich	24 (36,9)	19 (40,4)	
Alter – Jahre			
Median	58	57	p=0,88
Spanne	25-75	35-78	
Child-Pugh Stadium – no. (%)			
A	0 (0)	32 (68,1)	p<0,001
B	12 (18,5)	13 (27,7)	
C	53 (81,5)	2 (4,3)	
Ätiologie – no. (%)			
Nutritiv-toxisch	52 (80)	26 (63,4)	p=0,005
HCV	10 (15,4)	16 (39)	
HBV	7 (10,8)	3 (7,3)	
PBC/PSC/AIH	2 (3,1)	3 (7,3)	
Sonstige	8 (12,3)	1 (2,4)	

In beiden Gruppen waren über die Hälfte der Probanden männlich. Insgesamt wurden 65 Patienten mit Leberzirrhose und HRS sowie 47 Patienten mit Leberzirrhose ohne begleitendes HRS eingeschlossen. Die Gruppen waren ausgeglichen in Bezug auf das Geschlecht (59-63% männlich, 36-40% weiblich) sowie das Alter. Das mediane Alter der HRS-Gruppe lag bei 58 Jahren, das der Kontrollgruppe ohne HRS bei 57 Jahren. Unterschiede zeigten sich in den Child-Pugh Stadien der beiden Gruppen sowie der Ätiogenese. Die beiden Kollektive einzeln betrachtet zeigen jeweils als Hauptursache die nutritiv-toxische Genese, die Zusammensetzung der verschiedenen Ätiogenesen ist jedoch in beiden Gruppen unterschiedlich. In der Auswertung ist darauf zu verweisen, dass die Gesamtanzahl der Ätiologien, die Anzahl der jeweiligen Patienten überschreitet. Dies liegt daran, dass bei einigen Patienten auch kombinierte Ätiologien, z.B. HCV und nutritiv-toxisch in die Auswertung der Ätiologien eingegangen sind. Ebenfalls ist die Interpretation der Signifikanz der Ätiologie in den zwei verschiedenen Gruppen nur begrenzt

möglich, da im Rahmen des Chi-Quadrat Tests mehr als 20 % der Zellen einen Wert kleiner 5 haben.

4.1.2. Labormedizinische Parameter der Kollektive

Tabelle 7 Labormedizinische Parameter der Kollektive bei Aufnahme (Mann-Whitney-U Test)

	Leberzirrhose mit HRS n = 65	Leberzirrhose ohne HRS n = 47	p-Wert
Serum-Kreatinin – mg/dl			
Median	2,21	0,83	p<0,001
Spanne	0,68-6,51	0,57-6,68	
Serum-Bilirubin – mg/dl			
Median	4,58	1,05	p<0,001
Spanne	0,36-40,78	0,39-5,05	
INR			
Median	1,5	1,1	p<0,001
Spanne	1,0-3,1	0,9-11,5	
MELD-Score			
Median	23	9	p<0,001
Spanne	9-40	6-40	
C-reactive Peptid (CRP) – mg/dl			
Median	21	2,85	p<0,001
Spanne	2,8-161	0,2-270	
Leukozytenkonzentration - /nl			
Median	7,92	5,68	p<0,001
Spanne	2,21-33,6	2,3-14,6	

Sowohl zu Beginn des stationären Aufenthaltes der Patienten als auch bei der ambulanten Vorstellung der meisten Patienten der Kontrollgruppe wurden diverse labormedizinische Parameter erhoben. Hierbei war das Kreatinin bei stationärer Aufnahme der HRS-Gruppe im Median bei 2,21 mg/dl, das der Kontrollgruppe bei 0,85 mg/dl. Ebenso lag der Median des Aufnahmebilirubin der HRS-Kohorte bei 4,58 mg/dl, das der Kontroll-Kohorte bei 1,05 mg/dl. Die Entzündungsparameter, im Speziellen das CRP, lag bei den Patienten der HRS-Gruppe im Median bei 21 mg/dl, das der Kontrollgruppe bei 2,85 mg/d (Tabelle 7) und unterschied sich somit signifikant in beiden Gruppen.

4.1.3. M30 zu Beginn der HRS-Episode/Aufnahme der Kontrollgruppe

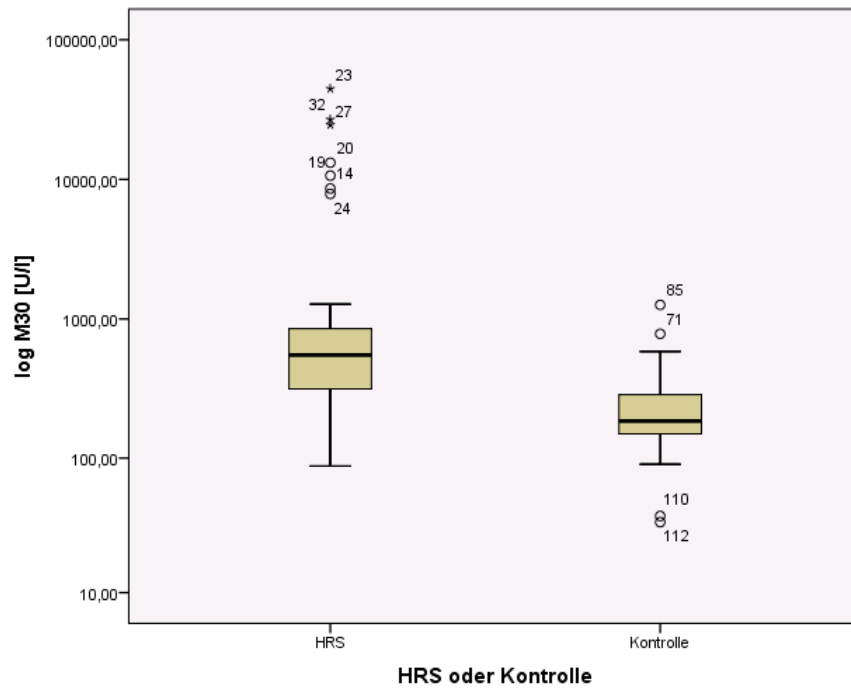


Abbildung 7 M30-Konzentration der HRS-Gruppe zu Beginn der Episode / Kontrollgruppe bei Aufnahme (p-Wert < 0,001, Mann-Whitney U Test)

Der Median der M30- Serumkonzentration lag in der HRS-Gruppe bei 552,65 U/l, bei einer Spanne von 87,66 U/l bis 44629,35 U/l. In der non-HRS-Gruppe lag der Median bei 185,24 U/l, bei einer Spanne von 34,15 U/l bis 1262 U/l (p-Wert< 0,001) (Abbildung 7).

4.1.4. M65 zu Beginn der HRS-Episode/Aufnahme der Kontrollgruppe

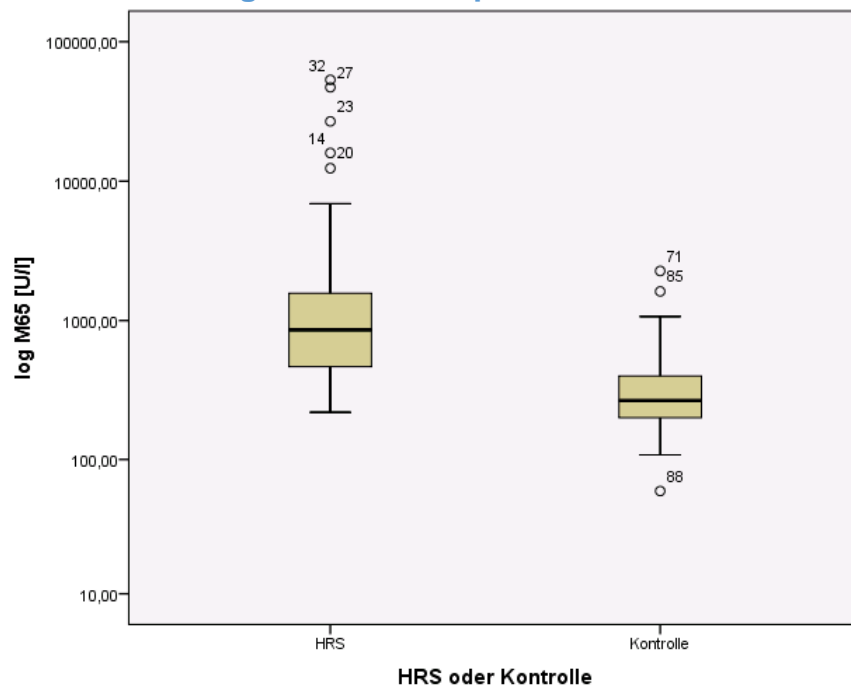


Abbildung 8 M65-Konzentration der HRS-Gruppe zu Beginn der Episode / Kontrollgruppe bei Aufnahme (p-Wert < 0,001, Mann-Whitney U Test)

Der Median lag in der HRS-Gruppe bei 857,81 U/l, bei einer Spanne von 219,17 U/l bis 53304,65 U/L. In der non-HRS-Gruppe lag der Median bei 266,35 U/l, bei einer Spanne von 59,02 U/l bis 2268,36 U/l (p-Wert < 0,001) (Abbildung 8).

4.2. Korrelation M30/M65 mit klinisch-laborchemischen Entzündungsparametern

4.2.1. Streudiagramm der Leukozytenkonzentration bei Aufnahme in Abhängigkeit zur M30-Konzentration

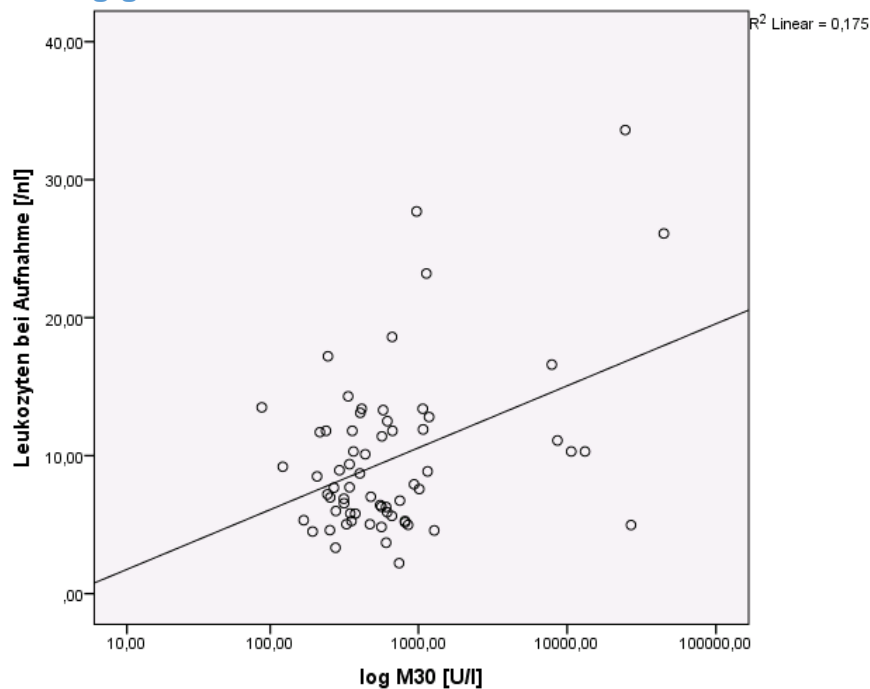


Abbildung 9 Streudiagramm Leukozytenkonzentration bei Aufnahme in Korrelation zur M30-Konzentration (Bestimmtheitsmaß 0,175, Korrelation nach Spearman-Rho 0,18, p = 0,151)

In diesem Unterkapitel ging es um die Fragestellung ob die gängigen Entzündungsparameter die laborchemisch erhoben werden können mit den Zelltodbiomarkern bei der Patientengruppe mit HRS in Korrelation stehen. Hierbei wollten wir sehen ob höhere Entzündungsparameter auch mit höheren Zelltodbiomarkern einhergehen. Es zeigt sich über alle Patienten der HRS Gruppe hinweg, dass zwischen der Leukozytenkonzentration bei Aufnahme und der logarithmischen Darstellung der M30-Konzentration eine schwach positive Korrelation besteht, mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,18, einem p-Wert von 0,151 sowie einem Bestimmtheitsmaß von 0,175 (Abbildung 9).

4.2.2. Streudiagramm der CRP-Konzentration bei Aufnahme in Abhängigkeit zur M30-Konzentration

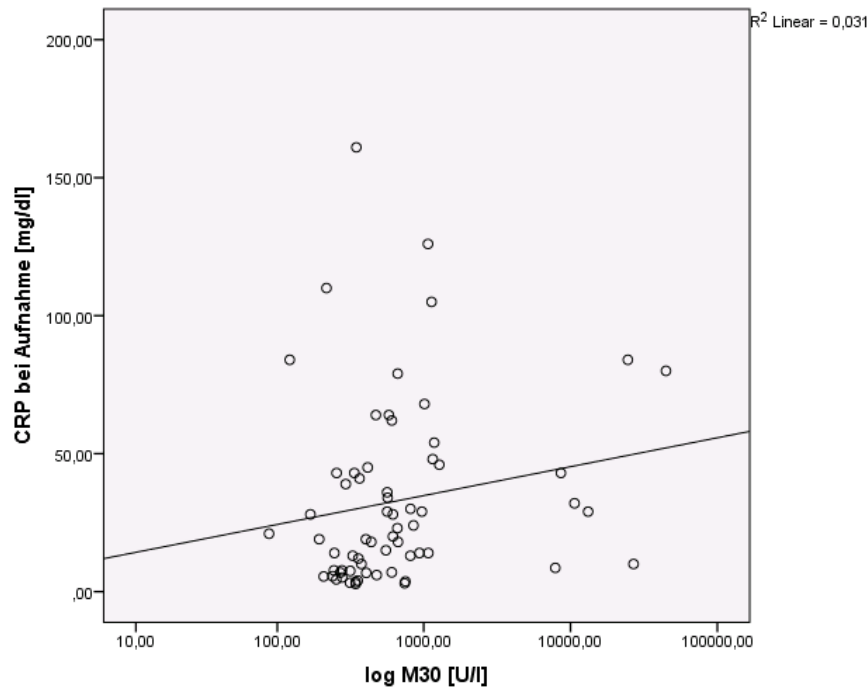


Abbildung 10 Streudiagramm CRP-Konzentration bei Aufnahme in Korrelation zur M30-Konzentration (Bestimmtheitsmaß 0,031, Korrelation nach Spearman-Rho 0,317, $p = 0,01$)

Es zeigt sich über die HRS Patienten hinweg, dass zwischen der CRP-Konzentration bei Aufnahme und der logarithmischen Darstellung der M30-Konzentration eine positive moderate Korrelation besteht, mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,317, einem p-Wert von 0,01 sowie einem Bestimmtheitsmaß von 0,031 (Abbildung 10).

4.2.3. Streudiagramm der Leukozytenkonzentration bei Aufnahme in Abhängigkeit zur M65-Konzentration

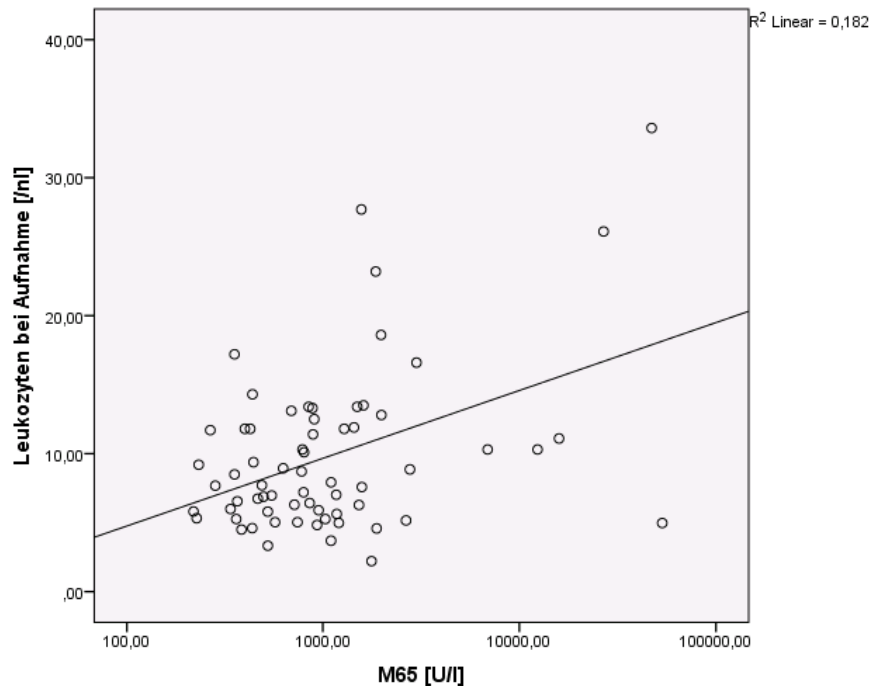


Abbildung 11 Streudiagramm Leukozytenkonzentration bei Aufnahme in Korrelation zur M65-Konzentration (Bestimmtheitsmaß 0,182, Korrelation nach Spearman-Rho 0,22, $p = 0,078$)

Es zeigt sich über die HRS Patienten hinweg, dass zwischen der Leukozytenkonzentration bei Aufnahme und der logarithmischen Darstellung der M65-Konzentration eine schwach positive Korrelation besteht, mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,22, einem p-Wert von 0,078 sowie einem Bestimmtheitsmaß von 0,182 (Abbildung 11).

4.2.4. Streudiagramm der CRP-Konzentration bei Aufnahme in Abhängigkeit zur M65-Konzentration

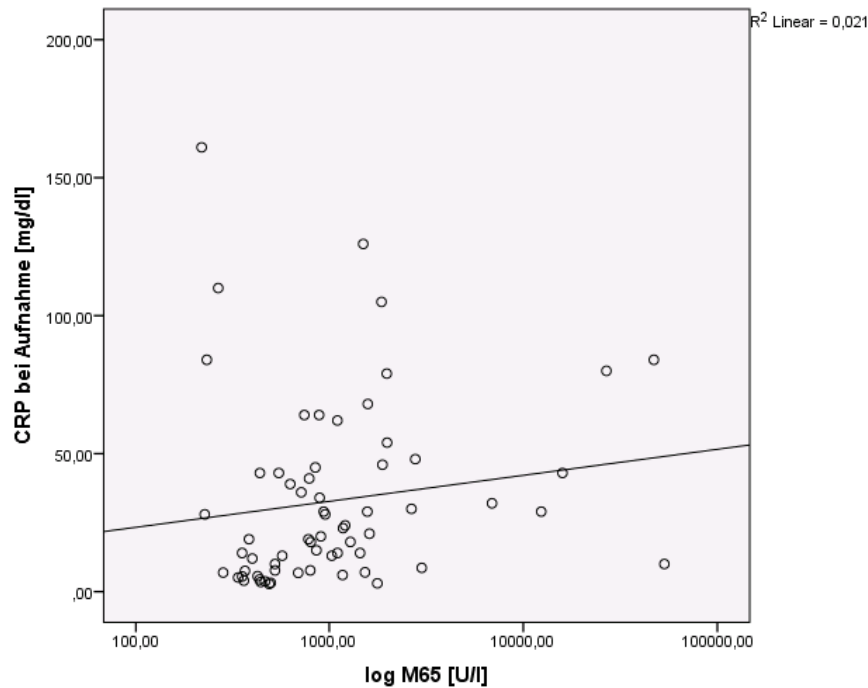


Abbildung 12 Streudiagramm CRP-Konzentration bei Aufnahme in Korrelation zur M65-Konzentration (Bestimmtheitsmaß 0,021, Korrelation nach Spearman-Rho 0,324, p 0,009)

Es zeigt sich über die HRS Patienten hinweg, dass zwischen der CRP-Konzentration bei Aufnahme und der logarithmischen Darstellung der M65-Konzentration eine positive moderate Korrelation besteht, mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,324, einem p-Wert von 0,009 sowie einem Bestimmtheitsmaß von 0,021 (Abbildung 12).

Somit ergibt sich dass die Korrelationen zwischen den Zelltodbiomarkern und dem CRP bei Aufnahme ausgeprägter sind als mit der Leukozytenkonzentrationen bei Aufnahme.

4.3. Terlipressinbehandlung innerhalb der HRS-Kohorte

4.3.1. Vergleich Kreatininkonzentration von Aufnahme und Terlipressinstart

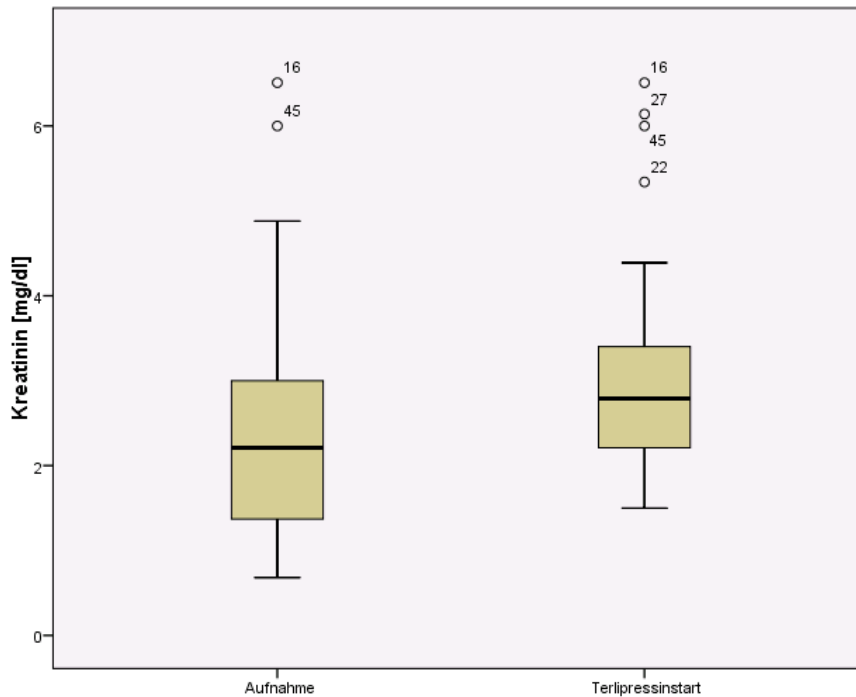


Abbildung 13 Kreatininkonzentration bei Aufnahme und Terlipressinstart (p-Wert < 0,001, Wilcoxon-Vorzeichenrangtest)

Die Standardtherapie bei nachgewiesenem HRS wird mit Terlipressin durchgeführt. Nachfolgend haben wir zunächst gängige Laborparameter vor, zu Beginn und nach der Therapie verglichen, um nachfolgend eine Assoziation zum Ansprechen auf eine Terlipressin-Therapie zu evaluieren. Der Median des Kreatinin-Wertes lag zum Zeitpunkt der Aufnahme bei 2,21 mg/dl, bei einer Spanne von 0,68 mg/dl bis 6,51 mg/dl. Der Median zum Zeitpunkt des Terlipressinstartes befand sich bei 2,79 mg/dl, bei einer Spanne von 1,50 mg/dl bis 6,51 mg/dl (p-Wert <0,001) (Abbildung 13).

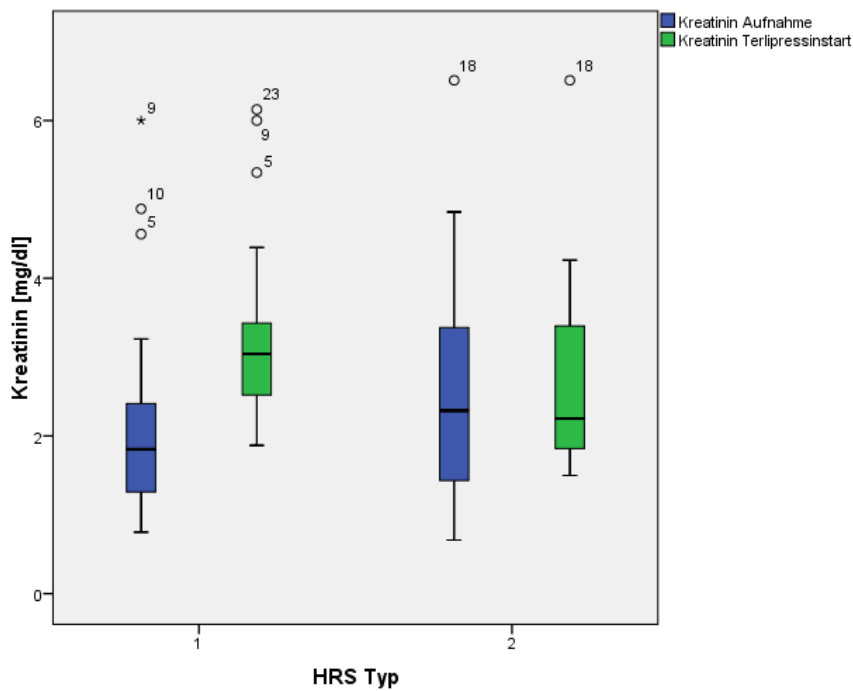


Abbildung 14 Kreatinin bei Aufnahme und Terlipressinstart unterteilt in HRS I (n=33, p <0,001) und HRS II (n= 32, p = 0,34) (Wilcoxon- Vorzeichenrangtest)

Unterteilt man nun die obenstehende Analyse anhand der HRS Typen so erhält man einen medianen Kreatininwert der HRS Typ I Gruppe bei Aufnahme von 1,83 mg/dl bei einer Spanne von 0,78 mg/dl bis 2,90 mg/dl. Der Median zum Zeitpunkt des Terlipressinstartes der HRS Typ I Gruppe befand sich bei 3,04 mg/dl, bei einer Spanne von 2,60 mg/dl bis 3,48 mg/dl (p-Wert <0,001). Die HRS Typ II Gruppe hat bei Aufnahme einen medianen Kreatininwert von 2,32 mg/dl mit einer Spanne von 1,50 mg/dl bis 3,14 mg/dl. Bei Terlipressinstart lag der Median bei 2,22 mg/dl mit einer Spanne von 1,88 mg/dl bis 3,40 mg/dl (p-Wert=0,34) (Abbildung 14).

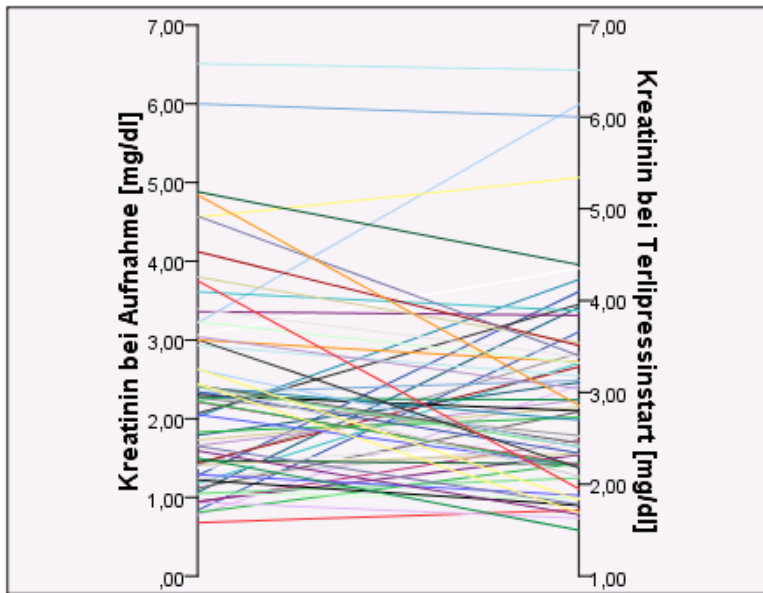


Abbildung 15 Parallelgrafik der Kreatininkonzentration

4.3.2. Vergleich der Kreatininkonzentrationen zu Terlipressinstart und -ende

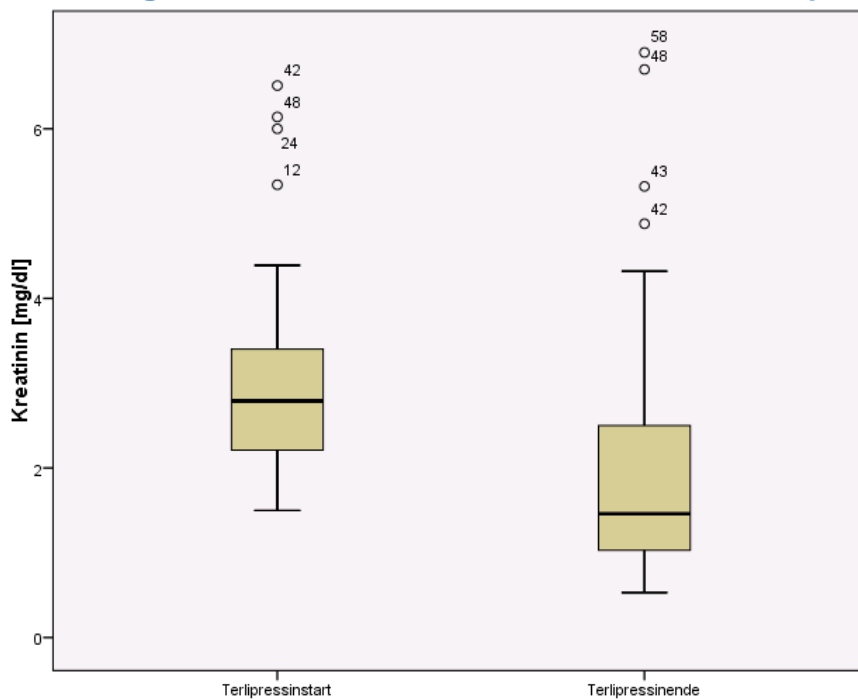


Abbildung 16 Kreatininkonzentration bei Terlipressinstart und -ende (p-Wert < 0,001, Wilcoxon-Vorzeichenrangtest)

Der Median des Kreatininwertes zum Zeitpunkt des Terlipressinstartes lag bei 2,79 mg/dl, bei einer Spanne von 1,50 mg/dl bis 6,51 mg/dl. Der Median des Kreatininwertes zum Zeitpunkt des Endes der Terlipressingabe lag bei 1,46 mg/dl, bei einer Spanne von 0,53 mg/dl bis 6,90 mg/dl (p-Wert <0,001) (Abbildung 16).

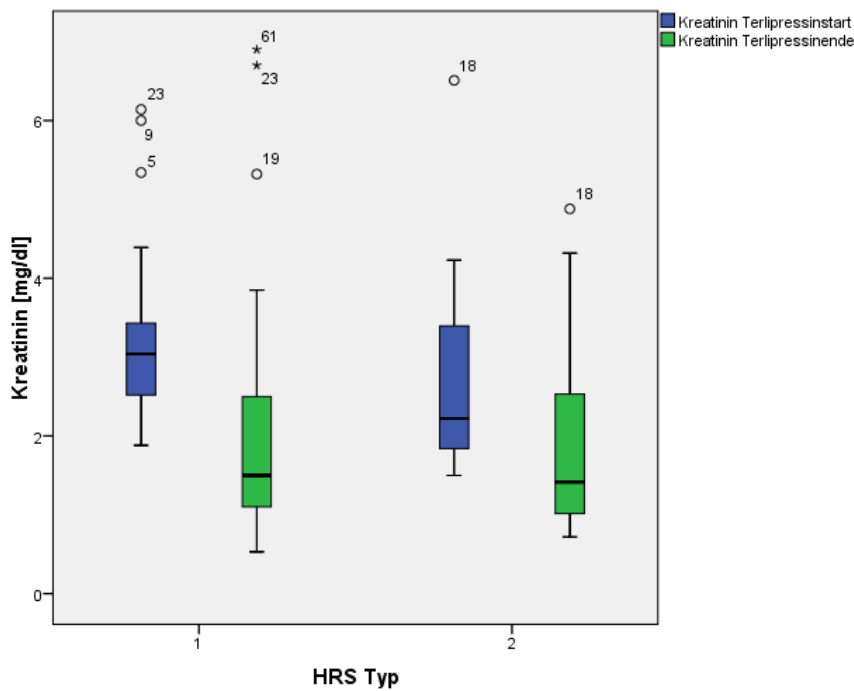


Abbildung 17 Kreatinin bei Terlipressinstart und Terlipressinende unterteilt in HRS I (n=33, p <0,001) und HRS II (n= 32, p <0,001) (Wilcoxon- Vorzeichenrangtest)

Unterteilt man nun die obenstehende Analyse anhand der HRS Typen so erhält man einen medianen Kreatininwert der HRS Typ I Gruppe bei Terlipressinstart von 3,04 mg/dl, bei einer Spanne von 1,88 mg/dl bis 6,14 mg/dl. Der Median zum Zeitpunkt des Endes der Terlipressintherapie der HRS Typ I Gruppe befand sich bei 1,50 mg/dl, bei einer Spanne von 0,53 mg/dl bis 6,90 mg/dl (p-Wert <0,001). Die HRS Typ II Gruppe hat bei Terlipressinstart einen Median von 2,22 mg/dl mit einer Spanne von 1,50 mg/dl bis 6,90 mg/dl. Bei Terlipressinende lag der Median bei 1,42 mg/dl mit einer Spanne von 0,72 mg/dl bis 4,88 mg/dl (p-Wert<0,001) (Abbildung 17).

4.3.3. Vergleich der Harnstoffkonzentration zu Terlipressinstart und -ende

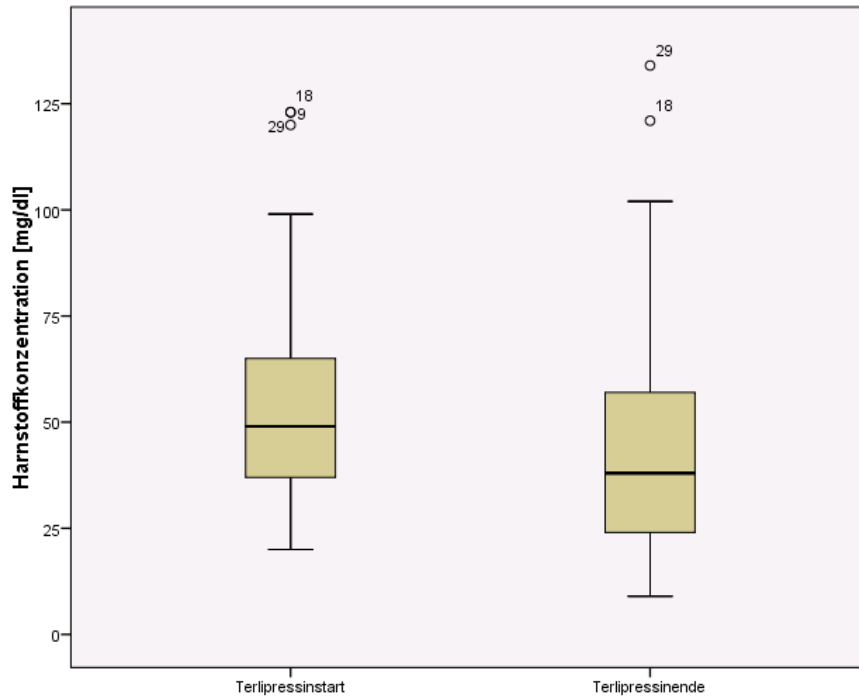


Abbildung 18 Harnstoffkonzentration bei Terlipressinstart und -ende (p-Wert <0,001, Wilcoxon-Vorzeichenrangtest)

Der Median der Harnstoffkonzentration lag zum Zeitpunkt des Terlipressinstartes bei 49 mg/dl, bei einer Spanne von 20 mg/dl bis 123 mg/dl. Der Median der Harnstoffkonzentration zum Zeitpunkt des Terlipressinendes lag bei 38 mg/dl, bei einer Spanne von 9 mg/dl bis 134 mg/dl (p-Wert <0,001) (Abbildung 18).

4.3.4. MELD-Score bei Terlipressinstart und Entlassung

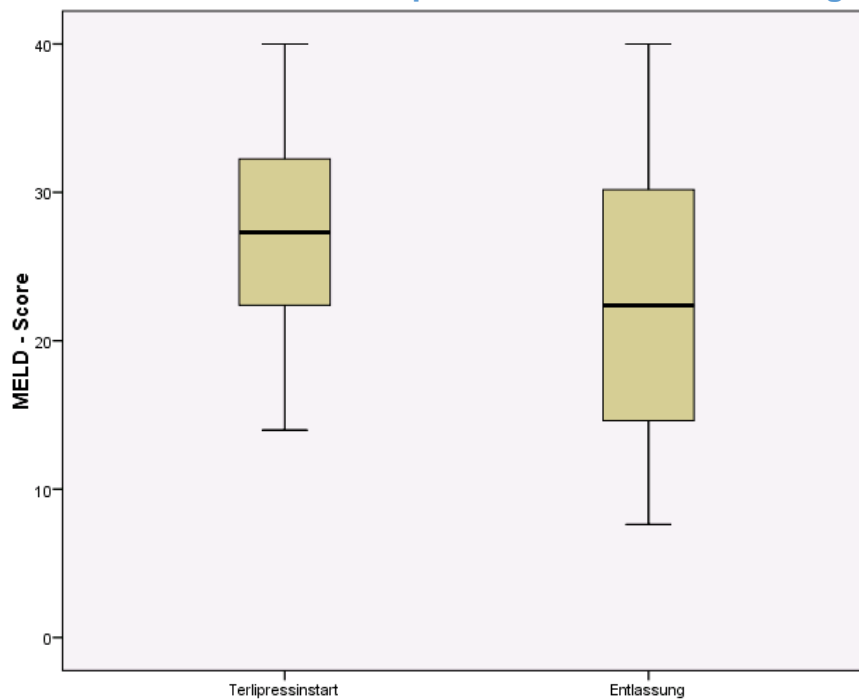


Abbildung 19 MELD-Score bei Terlipressinstart und Entlassung (p-Wert < 0,001, Wilcoxon-Vorzeichenrangtest)

Der Median des MELD-Scores lag bei Terlipressinstart bei 27,31, mit einer Spanne von 14 bis 40 Punkten. Bei Entlassung der Patienten lag der Median des MELD-Scores bei 22,39 mit einer Spanne von 8 bis 40 Punkten (p-Wert < 0,001). Anzumerken ist jedoch, dass der Parameter MELD bei Terlipressinstart bei insgesamt 4 Patienten nicht vorhanden war, da auch bei 4 Patienten der Bilirubinwert bei Terlipressinstart nicht erhoben wurde. Somit gehen in die Analysen dieser beiden Parameter nur 61 Patienten ein (Abbildung 19).

4.3.5. Verteilung der Therapielänge innerhalb der HRS-Kohorte

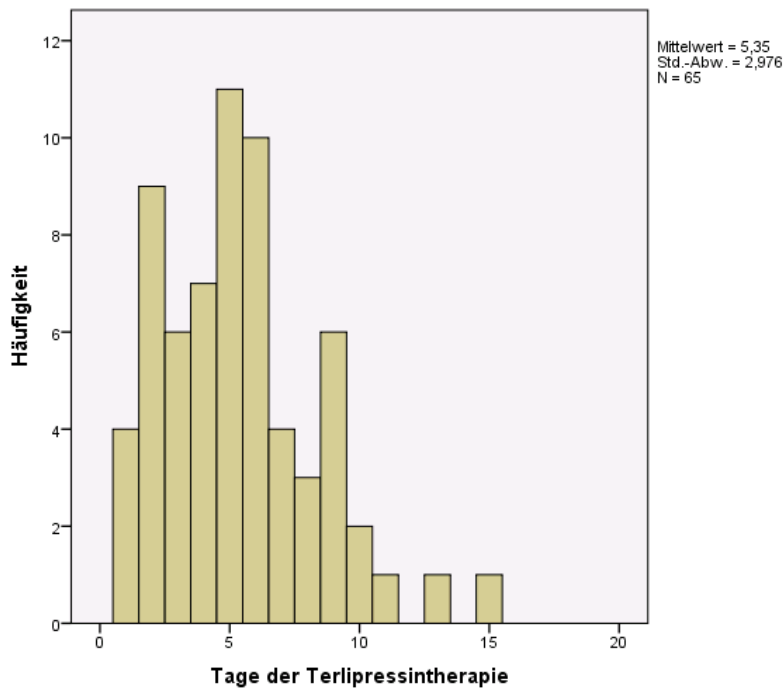


Abbildung 20 Dauer der Terlipressintherapie in Tagen

Im Durchschnitt lag die Behandlungsdauer der Patienten bei 5,35 Tagen, der Median lag bei 5 Tagen. Die Standardabweichung bei der Therapiedauer lag bei 2,98 Tagen, die Spanne zwischen 1 bis 15 Tagen (Abbildung 20).

4.3.6. Darstellung des Ansprechens innerhalb der HRS-Kohorte

Als Ansprechen wurde sowohl partielles als auch komplettes Ansprechen ohne Hämodialyse während der stationären Krankenhausbehandlung gewertet.

4.3.6.1. Darstellung als Kreisdiagramm über alle HRS-Patienten

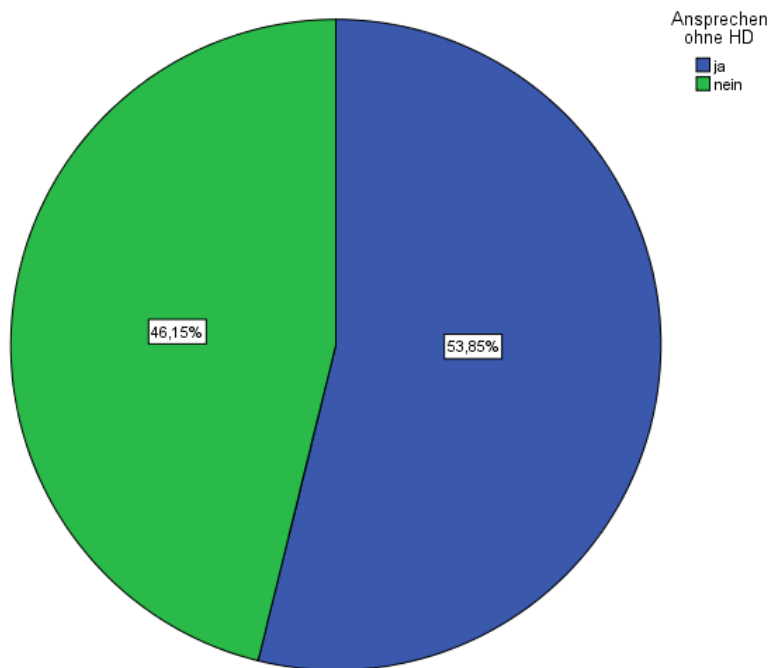


Abbildung 21 Verteilung des Therapieansprechens

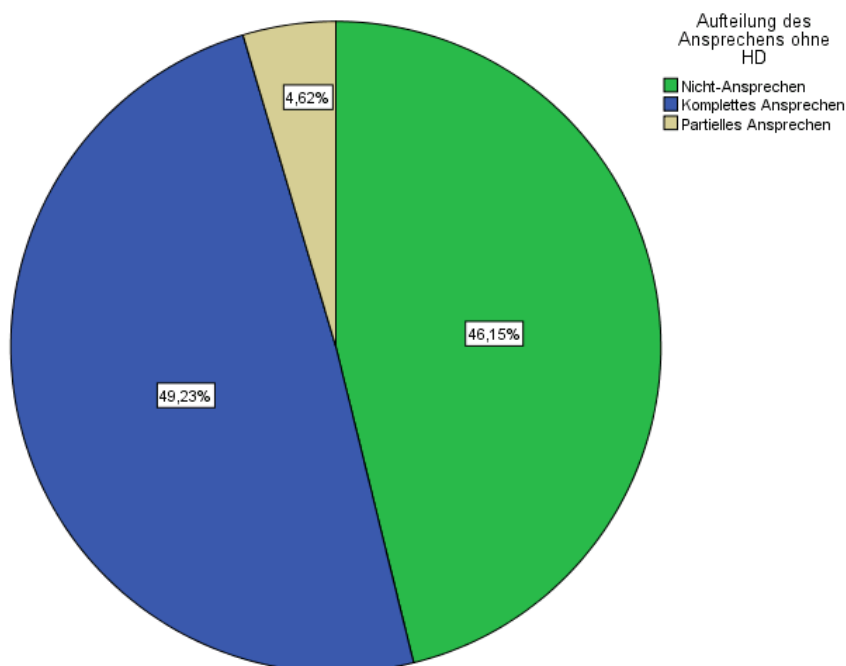


Abbildung 22 Subdifferenzierung in komplettes und partielles Therapieansprechen

In der Gesamtauswertung lag die Ansprechrate der Therapie bei 53,85%, 46,15% der Patienten sprachen nicht an. Das Kollektiv der Therapieansprecher lässt sich dann noch weiter unterteilen in 49,23% vollständiges Ansprechen und 4,62% teilweises Ansprechen auf die Therapie (Abbildung 21, 22).

4.3.6.2. Darstellung der M30-Werte in Abhängigkeit des Ansprechens

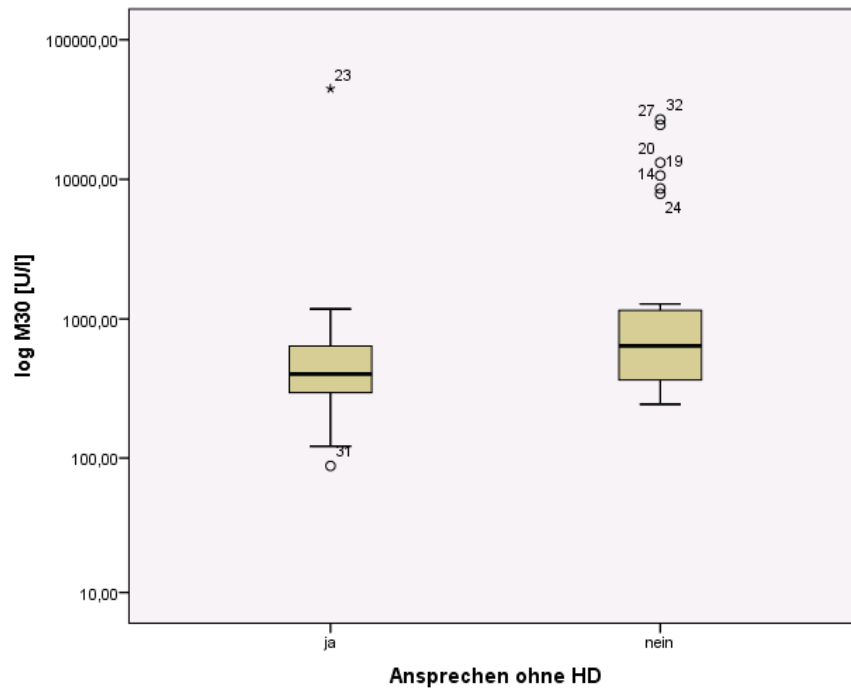


Abbildung 23 M30-Konzentration aufgeteilt nach Therapieansprechen (p-Wert 0,018, Mann-Whitney U Test)

Um eine mögliche Assoziation zu evaluieren, wurde nun der M30-Zelltodbiomarker hinsichtlich des Ansprechens auf die Therapie analysiert. Der Median der M30-Konzentration, bei den Patienten die auf die Therapie angesprochen haben, lag bei 403,16 U/l, bei einer Spanne von 87,66 U/l bis 44629,35 U/l. Der Median bei der Nicht-Ansprechen-Gruppe lag bei 640,68 U/l, bei einer Spanne von 243,95 U/l bis 26872,88 U/l (p-Wert 0,018) (Abbildung 23).

4.3.6.3. Darstellung der M65-Werte in Abhängigkeit des Ansprechens

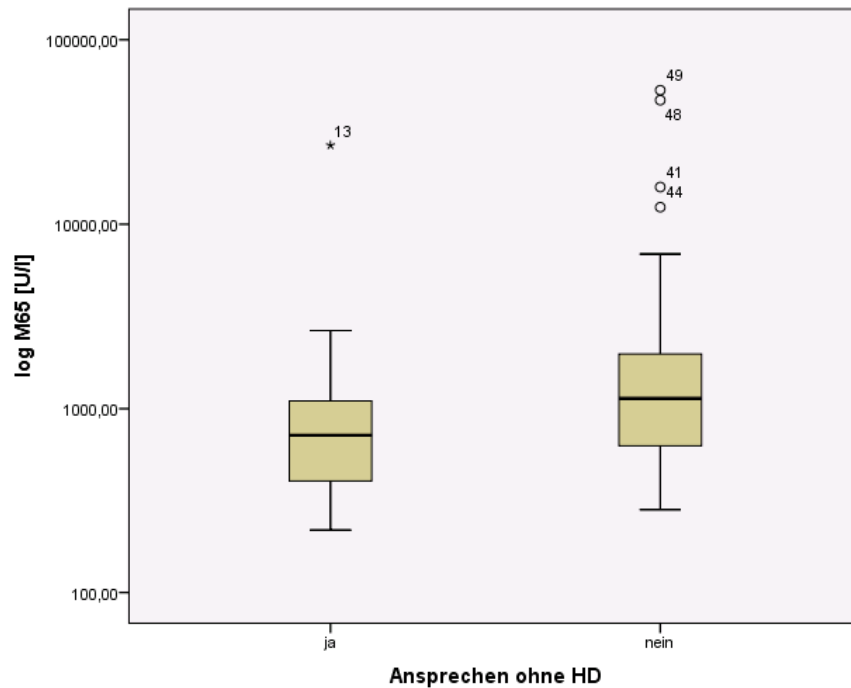


Abbildung 24 M65-Konzentration aufgeteilt nach Therapieansprechen (p-Wert 0,011, Mann-Whitney U Test)

Ebenso wurde der M65-Zelltodbiomarker hinsichtlich des Ansprechens auf die Therapie evaluiert. Der Median der M65-Konzentration, bei den Patienten die auf die Therapie angesprochen haben, lag bei 716,99 U/l, bei einer Spanne von 219,17 U/l bis 26814,76 U/l. Der Median bei der Nicht-Ansprechen-Gruppe lag bei 1136,41 U/l, bei einer Spanne von 283,24 U/l bis 53304,65 U/l (p-Wert 0,011) (Abbildung 24).

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass sowohl der M30 als auch der M65 Zelltodbiomarker, die vor Einleitung der Therapie nach Aufnahme der Patienten abgenommen wurden, bei Patienten die auf die Therapie angesprochen haben niedriger waren, als bei denjenigen die nicht auf die Therapie angesprochen haben.

4.4. Univariate Analyse in Bezug auf das Terlipressinansprechen

Anzumerken ist, dass der Parameter MELD bei Terlipressinstart bei insgesamt 4 Patienten nicht vorhanden war, da auch bei 4 Patienten der Bilirubinwert bei Terlipressinstart nicht erhoben wurde. Somit gehen in die Analysen dieser beiden Parameter nur 61 Patienten ein. In die Auswertung der LTx Listung gehen nur 64 Patienten ein, da bei einem Patienten der Status der Listung unbekannt war.

Tabelle 8 Univariate Analyse Therapieansprechen (Mann-Whitney U Test, Chi-Quadrat nach Pearson)

	Therapieansprecher ohne Hämodialyse n = 35 (33)	Therapieversager n = 30 (28)	p-Wert
Geschlecht – no. (%)			
Männlich	21 (60)	20 (66,6)	p=0,579
Weiblich	14 (40)	10 (33,3)	
HRS Typ – no. (%)			
Typ I	17 (49)	16 (53,3)	p=0,702
Typ II	18 (51)	14 (46,6)	
Alter – Jahre			
Median	55	59	p=0,453
Spanne	28-67	25-75	
Kreatinin bei Aufnahme – mg/dl			
Median	1,79	2,28	p=0,289
Spanne	0,68-6,00	0,81-6,51	
Bilirubin bei Aufnahme – mg/dl			
Median	3,10	7,99	p=0,058
Spanne	0,36-39,03	1,06-40,78	
CRP bei Aufnahme – mg/dl			
Median	21	23	p=0,803
Spanne	2,8-161	3-126	
Leukozyten bei Aufnahme – /nl			
Median	7,71	8,39	p=0,849
Spanne	4,5-27,7	2,21-33,6	
CRP bei Terlipressinstart – mg/dl			
Median	34	24,5	p=0,580
Spanne	2,2-207	3-145	
Leukozyten bei Terlipressinstart - /nl			
Median	9,1	8,9	p=0,236
Spanne	1,4-33,5	2-33	
Kreatinin bei Terlipressinstart – mg/dl			
Median	2,44	2,92	p=0,082
Spanne	1,63-6	1,5-6,51	
Bilirubin bei Terlipressinstart – mg/dl	n=33	n=28	
Median	3,2	7,0	p=0,051
Spanne	0,4-34,7	0,8-42,7	

Terlipressintherapietage Median Spanne	5 1-15	5 1-9	p=0,271
Kumulierte Terlipressindosis – mg Median Spanne	24,0 5-134	20,0 3-48	p=0,184
Kreatinin bei Terlipressinende – mg/dl Median Spanne	1,13 0,53-1,8	2,66 0,83-6,90	p<0,001
Flotide zum Zeitpunkt des HRS – no. (%) Ja Nein	10 (28,6) 25 (71,4)	5 (16,7) 25 (83,3)	p=0,256
LTX-Listung – no. (%) Ja Nein	n=34 10 (29,4) 24 (70,6)	14 (46,6) 16 (53,3)	p=0,155
MELD-Score bei Aufnahme Median Spanne	22 9-40	26 9-40	p=0,036
MELD-Score bei Terlipressinstart Median Spanne	n=33 24 14-40	n=28 29 14-40	p=0,008
M30-Konzentration – U/l Median Spanne	403,16 87,66-44629,35	640,68 243,95-26872,88	p=0,018
M65-Konzentration – U/l Median Spanne	716,99 219,17-26814,76	1136,41 283,24-53304,65	p=0,011

4.5. Univariate Analyse in Bezug auf die M30/M65 hoch und niedrig Klassifizierung

Die vorangegangenen Untersuchungen deuten auf eine Assoziation zwischen dem Ansprechen auf Terlipressin und M30/65 hin. Um die klinischen Unterschiede in Abhängigkeit der Konzentration zu vergleichen haben wir als nächstes die HRS Kohorten anhand ihrer M30 und M65 Konzentration in zwei Subgruppen unterteilt. Diese Subgruppierung erfolgte mit Hilfe des Medians, der das Patientenkollektiv in eine M30, respektive M65 Gruppe „hoch“ und eine M30/M65 Gruppe „niedrig“ einteilte. In der M30 hoch –Gruppe befanden sich demnach 32 Patienten, in der M30 niedrig-Gruppe befanden sich 33 Patienten. Die M65 hoch-Gruppe beinhaltete ebenfalls 32 Patienten, die M65 niedrig-Gruppe 33. Anzumerken ist jedoch, dass der Parameter MELD bei Terlipressinstart bei insgesamt 4 Patienten nicht vorhanden war, da auch bei 4 Patienten der Bilirubinwert bei Terlipressinstart nicht erhoben wurde. Somit gehen in die Analysen dieser beiden Parameter nur 61 Patienten ein.

Tabelle 9 Univariate Analyse M30 hoch/niedrig (Mann-Whitney U Test, Chi-Quadrat nach Pearson)

	M30 hoch n = 32 (31)	M30 niedrig n = 33 (30)	p-Wert
Florde zum Zeitpunkt des HRS- no. (%)			
Ja	12 (37,5)	3 (9)	p=0,007
Nein	20 (62,5)	30 (91)	
MELD-Score bei Aufnahme			
Median	28	21	p=0,002
Spanne	13-40	9-37	
Kreatinin bei Aufnahme – mg/dl			
Median	2,15	2,21	p=0,906
Spanne	0,68-6,51	0,78-3,8	
Bilirubin bei Aufnahme – mg/dl			
Median	10,85	2,50	p<0,001
Spanne	0,73-40,78	0,36-32,51	
CRP bei Aufnahme – mg/dl			
Median	29,50	13,00	p=0,008
Spanne	3-126	2,8-161	
Leukozyten bei Aufnahme – /nl			
Median	9,58	7,68	p=0,416
Spanne	2,21-33,6	3,33-17,2	
CRP bei Terlipressinstart – mg/dl			
Median	36,5	16,0	p=0,014
Spanne	3-207	2,2-145	
Leukozyten bei Terlipressinstart - /nl			
Median	9,5	6,9	p=0,303
Spanne	2,0-33,5	1,4-24,4	
Kreatinin bei Terlipressinstart – mg/dl			
Median	2,83	2,53	p=0,131
Spanne	1,63-6,51	1,5-4,23	
MELD-Score bei Terlipressinstart	n= 31	n=30	
Median	32	24	p=0,001
Spanne	14-40	14-35	

Tabelle 10 Univariate Analyse M65 hoch/niedrig (Mann-Whitney U Test, Chi-Quadrat nach Pearson)

	M65 hoch n = 32 (31)	M65 niedrig n = 33 (30)	p-Wert
Flotide zum Zeitpunkt des HRS – no. (%)			
Ja	11 (34,4)	4 (12,1)	p=0,033
Nein	21 (65,6)	29 (87,9)	
MELD-Score bei Aufnahme			
Median	28	21	p=0,001
Spanne	13-40	9-37	
Kreatinin bei Aufnahme – mg/dl			
Median	2,06	2,26	p=0,849
Spanne	0,68-6,51	0,78-4,84	
Bilirubin bei Aufnahme – mg/dl			
Median	13,26	2,50	p<0,001
Spanne	0,73-40,78	0,36-32,51	
CRP bei Aufnahme – mg/dl			
Median	29,00	13,00	p=0,010
Spanne	3-126	2,8-161	
Leukozyten bei Aufnahme – /nl			
Median	10,30	7,20	p=0,189
Spanne	2,21-33,6	3,33-17,2	
CRP bei Terlipressinstart – mg/dl			
Median	38,5	16,0	p=0,007
Spanne	3-207	2,2-145	
Leukozyten bei Terlipressinstart - /nl			
Median	9,9	6,9	p=0,080
Spanne	2,1-33,5	1,4-24,4	
Kreatinin bei Terlipressinstart – mg/dl			
Median	2,86	2,53	p=0,181
Spanne	1,63-6,51	1,5-4,23	
MELD-Score bei Terlipressinstart	n= 31	n=30	
Median	32	24	p<0,001
Spanne	14-40	14-35	

Zusammenfassend zeigte sich, dass bei beiden Zelltodbiomarkern die gleichen Parameter (Floridität, MELD-Score/CRP/Bilirubin bei Aufnahme, CRP/MELD-Score bei Terlipressinstart) hinsichtlich der Konzentration der Zelltodbiomarker eine Tendenz aufweisen.

4.6. Univariate Analyse in Bezug auf überlebende/verstorbene Patienten

Hierbei gehen in der Analyse der LTx-Listung nur 64 Patienten ein, da bei einem Patienten der Status der Listung unbekannt war.

Tabelle 11 Univariate Analyse in Bezug auf überlebende/verstorbene Patienten (Mann-Whitney U Test, Chi-Quadrat nach Pearson)

	Überlebende Patienten n = 22	Verstorbene Patienten n=43	p-Wert
Geschlecht – no.(%)			
Männlich	12 (54,5)	29 (67,4)	p=0,308
Weiblich	10 (45,5)	14 (32,6)	
Alter – Jahre			
Median	55	58	p=0,279
Spanne	25-67	28-75	
LTX-Listung – no. (%)		n=42	
Ja	11 (50)	13 (31)	p=0,135
Nein	11 (50)	29 (69)	
Floride zum Zeitpunkt des HRS – no.(%)			
Ja	2 (9)	13 (30,2)	p=0,056
Nein	20 (91)	30 (69,8)	
Hämodialyse im Verlauf – no. (%)			
Ja	9 (40,9)	24 (55,8)	p=0,255
Nein	13 (59,1)	19 (44,2)	
Kreatinin bei Aufnahme – mg/dl			
Median	1,78	2,33	p=0,161
SD	0,95	1,40	
Bilirubin bei Aufnahme – mg/dl			
Median	2,71	5,64	p=0,157
SD	14,67	11,70	
CRP bei Aufnahme – mg/dl			
Median	19	21	p=0,402
SD	33,70	33,09	
Leukozyten bei Aufnahme – /nl			
Median	7,23	9,20	p=0,125
SD	7,04	5,32	
CRP bei Terlipressinstart – mg/dl			
Median	27,5	29,0	p=0,484
SD	34,2	45,0	
Leukozyten bei Terlipressinstart - /nl			
Median	7,4	9,4	p=0,475
SD	6,8	6,6	
Kreatinin bei Terlipressinstart – mg/dl			
Median	2,37	3,11	p=0,030
SD	1,00	1,10	
Bilirubin bei Terlipressinstart – mg/dl	n=21	n=40	
Median	2,8	4,5	P=0,080
SD	13,8	11,6	
Terlipressintherapietage			
Median	6	5	p=0,406
SD	3	3	

Kumulierte Terlipressindosis – mg			
Median	24,0	24,0	p=0,521
SD	12,9	20,2	
Ansprechen ohne Hämodialyse- no. (%)			
Ansprechen	14 (63,6)	21 (48,8)	p=0,257
Nicht-Ansprechen	8 (36,4)	22 (51,2)	
M30-Konzentration – U/l			
Median	565,6	477,8	p=0,80
Spanne	207,6-24563,2	87,66-44629,3	
M65-Konzentration – U/l			
Median	913,3	847,1	p=0,75
Spanne	267,05-47067,3	219,17-53304,6	
MELD-Score bei Aufnahme			
Median	20	26	p= 0,008
Spanne	9-40	13-40	
MELD-Score bei Terlipressinstart			
Median	22	28	p=0,009
Spanne	14-40	21-40	

4.7. Outcome nach Terlipressinbehandlung innerhalb der HRS-Kohorte

Als nächstes haben wir das LTX-/RRT-freie Überleben der Patienten betrachtet. In die Analyse sind nur 64 Patienten in die Berechnung mit eingegangen, da bei einem Patienten die erhobenen Daten bezüglich der LTX-/RRT-freien Zeit nicht vollständig waren. Die primären Endpunkte der LTX-/RRT-freien Analyse waren: Lebertransplantation, Hämodialyse und Tod. In der Analyse bezüglich des Gesamtüberlebens war der primäre Endpunkt der Tod der Patienten. Zur Auswertung des p-Wertes wurde, wie im Kapitel 3.7. beschrieben, der Test nach Breslow verwendet. Dieser wurde eingesetzt, da er die früheren Ereignisse stärker gewichtet. Denn frühe Ereignisse stellen im klinischen Alltag eine fulminante Erkrankung dar, die auf die notwendige Therapie nicht anspricht. Dies sollte bei der Evaluation der Überlebenszeitanalyse bei dieser Erkrankung berücksichtigt werden. Für alle Subgruppenunterteilungen in den Kaplan-Meier-Kurven wurde der Median der entsprechenden Parameter verwendet. Insgesamt lag die mediane Überlebenszeit aller Patienten mit HRS bei 173 Tagen (95% CI 19,8 – 326,20). Die mediane hämodialyse- und lebertransplantationsfreie Zeit lag insgesamt über alle Patienten bei 49 Tagen (95% CI 23,74 – 74,26 Tage).

4.7.1. Therapieansprechen vs. Nichtansprechen

4.7.1.1. Überleben

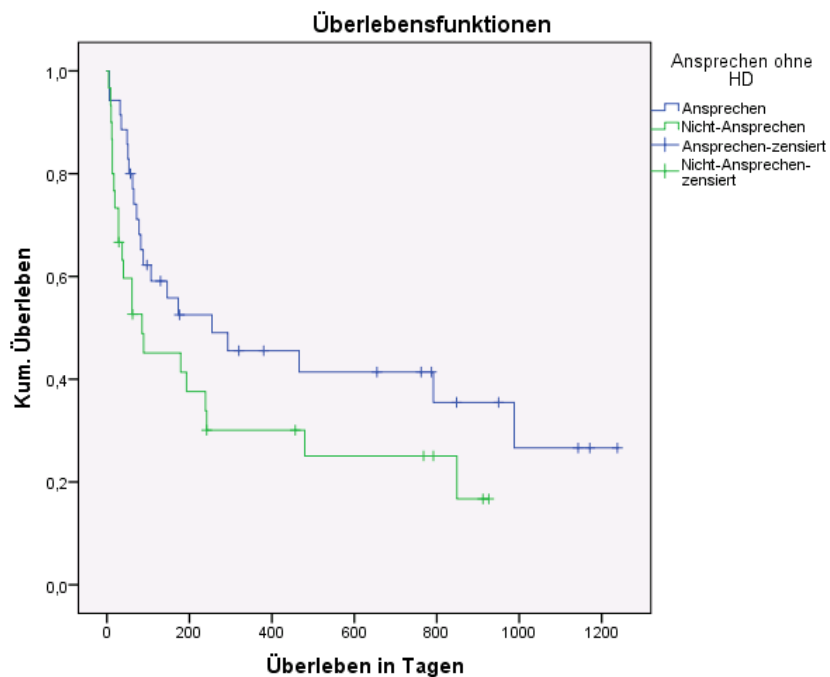


Abbildung 25 Überlebenszeitanalyse nach Breslow unterteilt nach Therapieansprechen (p-Wert 0,049)

Die mediane Überlebenszeit der Patienten in der Therapieansprechergruppe (n=35) lag geschätzt bei 255 Tagen und es traten 21 Ereignisse auf (95% CI 0 – 636,69 Tage). Die der Patienten in der Therapieversagergruppe (n=30) lag geschätzt bei 85 Tagen und es traten 22 Ereignisse auf (95% CI 0 – 223,46 Tage) (p-Wert 0,049) (Abbildung 25).

4.7.1.2. LTX-/RRT- freies Überleben

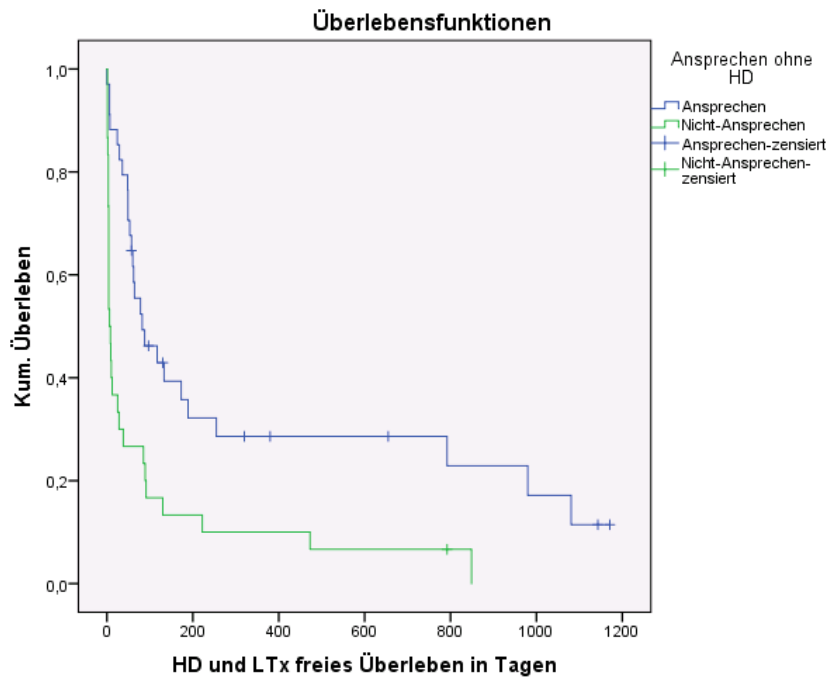


Abbildung 26 Hämodialyse- und lebertransplantationsfreies Überleben nach Breslow unterteilt nach Therapieansprechen (p-Wert <0,001)

Die mediane LTX- und RRT freie Zeit der Patienten in der Therapieansprechergruppe (n=34) lag geschätzt bei 82 Tagen und es traten 26 Ereignisse auf (95% CI 10,21 – 153,79 Tage). Die der Patienten in der Therapieversagergruppe (n=30) lag bei circa 6 Tagen und es traten 29 Ereignisse auf (95% CI 2,42 – 9,58 Tage) (p-Wert< 0,001) (Abbildung 26).

4.7.2. M30 hoch vs. niedrig

4.7.2.1. Überleben

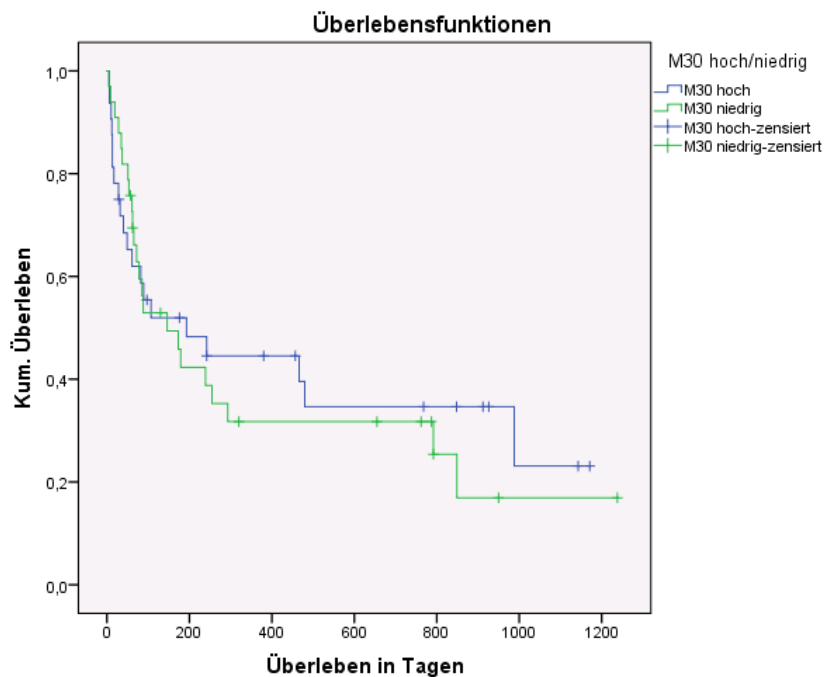


Abbildung 27 Überlebenszeitanalyse nach Breslow unterteilt anhand der M30-Konzentration (p-Wert 0,844)

Die mediane Überlebenszeit der Patienten in der M30 Hoch-Gruppe (n=32) lag geschätzt bei 193 Tagen und es traten 20 Ereignisse auf (95% CI 0 – 443,13 Tage). Die der Patienten in der M30 Niedrig-Gruppe (n=33) lag geschätzt bei 146 Tagen und es traten 23 Ereignisse auf (95% CI 26,78 – 265,23 Tage) (p-Wert 0,844) (Abbildung 27).

4.7.2.2. LTX-/RRT- freies Überleben

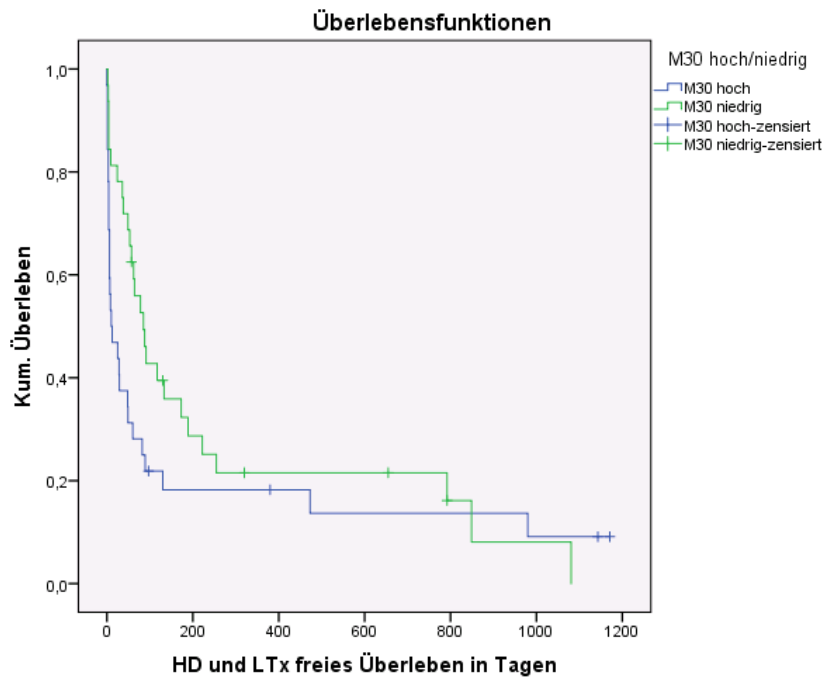


Abbildung 28 Hämodialyse- und lebertransplantationsfreies Überleben nach Breslow unterteilt nach M30-Konzentration (p-Wert 0,009)

Die mediane LTX- und RRT freie Zeit der Patienten in der M30 Hoch-Gruppe (n=32) lag bei circa 10 Tagen und es traten 28 Ereignisse auf (95% CI 0 – 34,95 Tage). Die der Patienten in der M30 Niedrig-Gruppe (n=32) lag geschätzt bei 85 Tagen und es traten 27 Ereignisse auf (95% CI 49,07 – 120-93 Tage) (p-Wert 0,009) (Abbildung 28).

4.7.3. M65 hoch vs. niedrig

4.7.3.1. Überleben

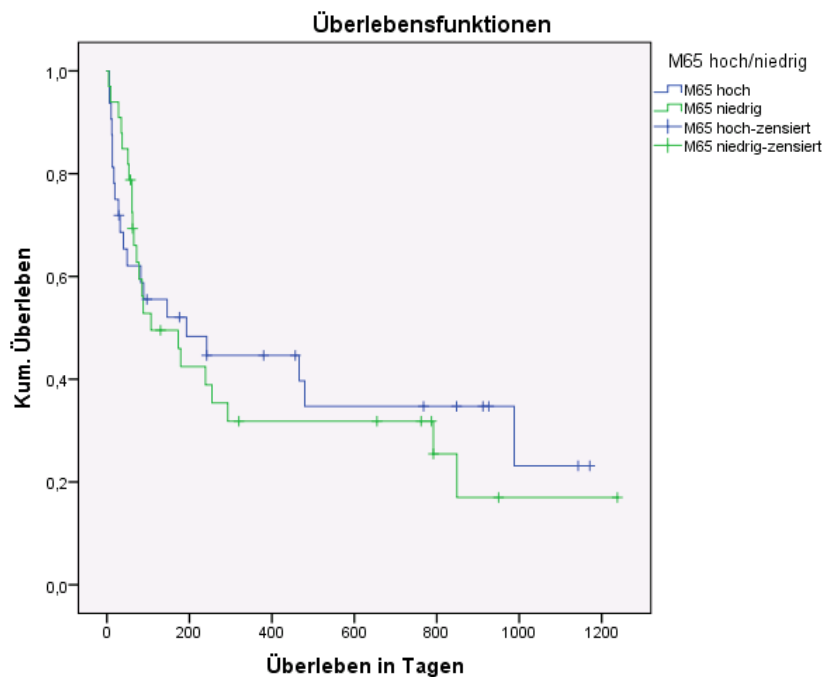


Abbildung 29 Überlebenszeitanalyse nach Breslow unterteilt anhand der M65-Konzentration (p-Wert 0,736)

Die mediane Überlebenszeit der Patienten in der M65 Hoch-Gruppe (n=32) lag geschätzt bei 193 Tagen und es traten 20 Ereignisse auf (95% CI 0 - 442,55 Tage). Die der Patienten in der M65 Niedrig-Gruppe (n=33) lag geschätzt bei 107 Tagen und es traten 23 Ereignisse auf (95% CI 0 - 227,56 Tage) (p-Wert 0,736) (Abbildung 29).

4.7.3.2. LTX-/RRT- freies Überleben

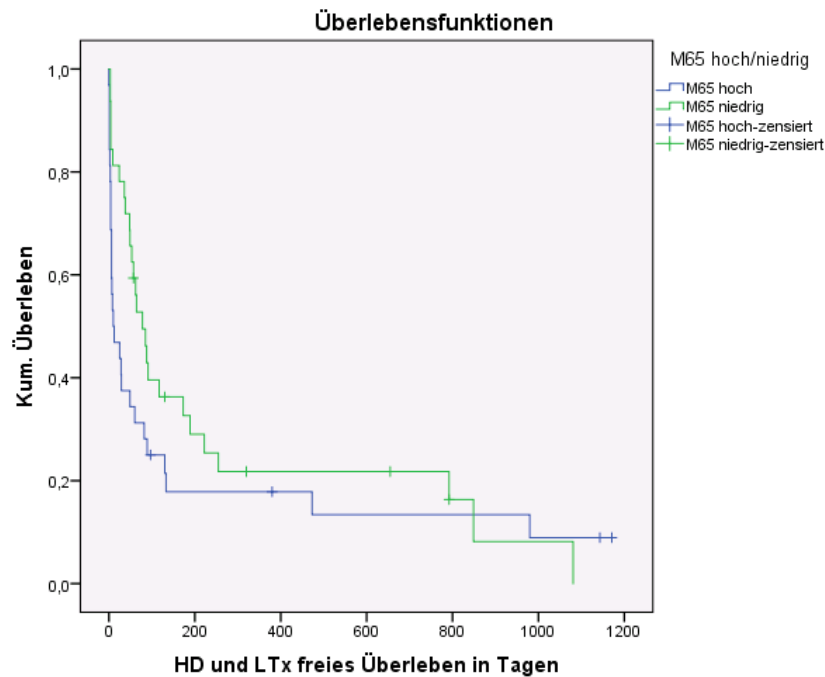


Abbildung 30 Hämodialyse- und lebertransplantationsfreies Überleben nach Breslow unterteilt nach M65-Konzentration (p-Wert 0,016)

Die mediane LTX- und RRT freie Zeit der Patienten in der M65 Hoch-Gruppe (n=32) lag geschätzt bei 10 Tagen und es traten 28 Ereignisse auf (95% CI 0 – 34,95 Tage). Die der Patienten in der M65 Niedrig-Gruppe (n=32) lag geschätzt bei 78 Tagen und es traten 27 Ereignisse auf (95% CI 43,55 – 112,45 Tage) (p-Wert 0,016) (Abbildung 30).

4.7.4. MELD hoch vs. MELD niedrig

Da in der univariaten Analyse MELD ebenfalls stark mit dem Überleben assoziiert war wurde in der nachfolgenden Überlebenszeitanalyse die Kohorte anhand dieses Parameters unterteilt, dazu wurde ebenfalls der Median verwendet. Zudem sollte erwähnt werden, dass der MELD-Score nicht bei allen Patienten zum Zeitpunkt des Terlipressinstartes erhoben werden konnte. Hierbei sind nur 60 Patienten in die Auswertung der LTX-/RRT-freien Zeit, beziehungsweise 61 Patienten in die Überlebenszeitanalyse eingegangen.

4.7.4.1. Überleben

4.7.4.1.1. MELD bei Aufnahme

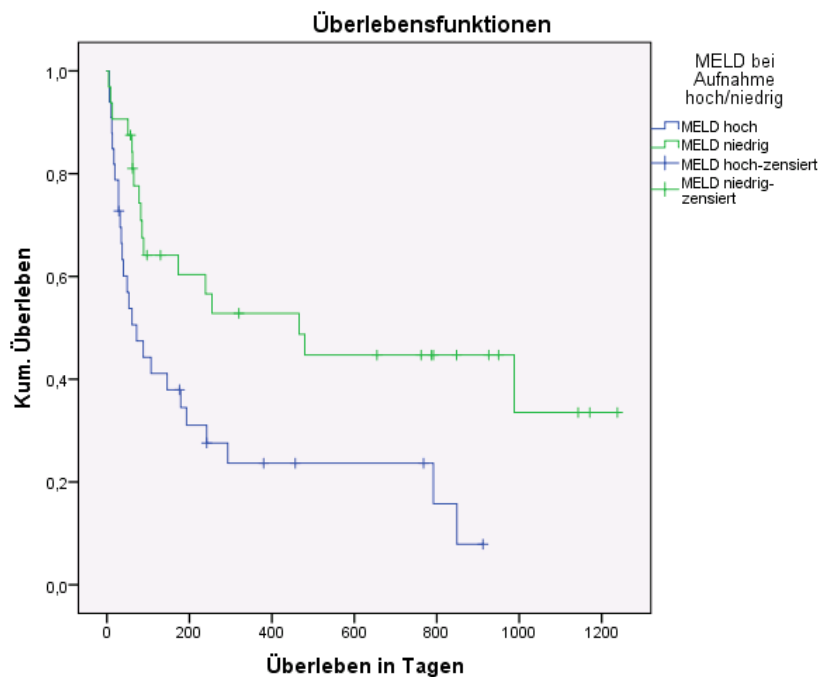


Abbildung 31 Überlebenszeitanalyse nach Breslow unterteilt nach MELD-Score bei Aufnahme (p-Wert 0,010)

Die mediane Überlebenszeit der Patienten in der MELD Hoch-Gruppe (n=33) lag bei circa 72 Tagen und es traten 26 Ereignisse auf (95% CI 18,12 – 125,28 Tage). Die der Patienten in der MELD Niedrig-Gruppe (n=32) lag geschätzt bei 466 Tagen und es traten 17 Ereignisse auf (95% CI 91,65 – 840,35 Tage) (p-Wert 0,010) (Abbildung 31).

4.7.4.1.2. MELD bei Terlipressinstart

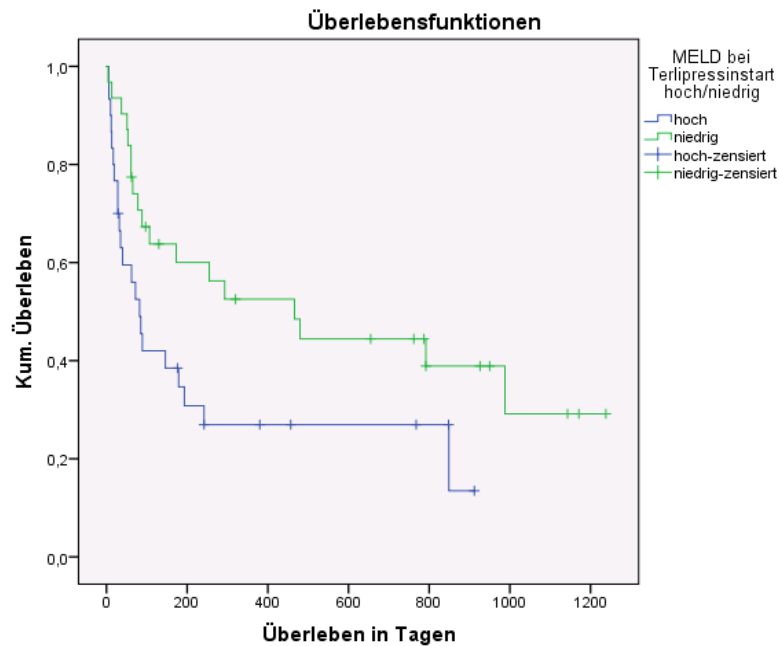


Abbildung 32 Überlebenszeitanalyse nach Breslow unterteilt nach MELD-Score bei Terlipressinstart (p-Wert 0,020)

Die mediane Überlebenszeit der Patienten in der MELD Hoch-Gruppe (n=30) lag bei circa 82 Tagen und es traten 22 Ereignisse auf (95% CI 47 – 117 Tage). Die der Patienten in der MELD Niedrig-Gruppe (n=31) lag geschätzt bei 466 Tagen und es traten 18 Ereignisse auf (95% CI 114,35 – 817, 65 Tage) (p-Wert 0,020) (Abbildung 32).

4.7.4.2. LTX-/RRT- freies Überleben

4.7.4.2.1. MELD bei Aufnahme

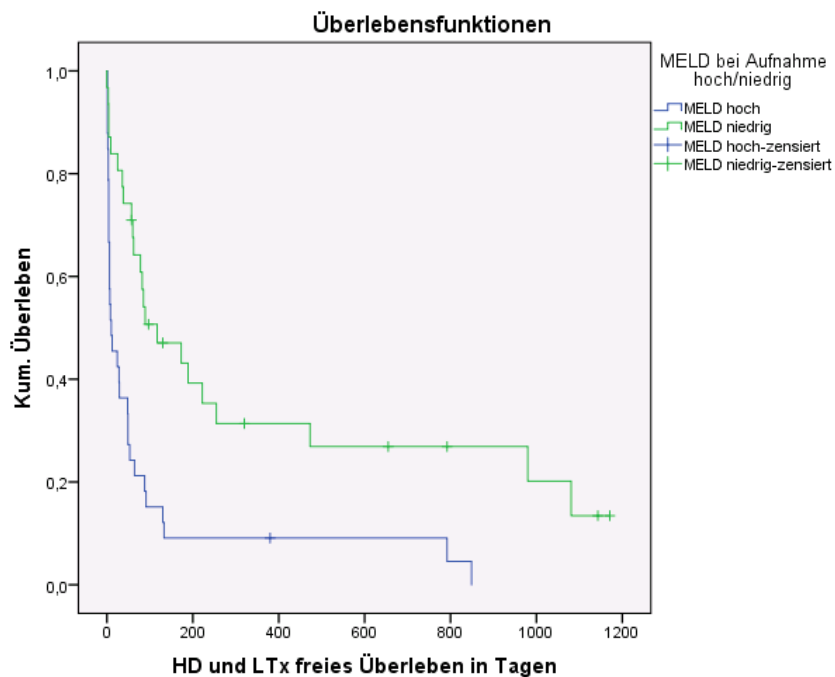


Abbildung 33 Hämodialyse- und lebertransplantationsfreies Überleben nach Breslow unterteilt nach MELD-Score bei Aufnahme (p-Wert < 0,001)

Die mediane LTX- und RRT freie Zeit der Patienten in der MELD Hoch-Gruppe (n=33) lag geschätzt bei 10 Tagen und es traten 32 Ereignisse auf (95% CI 0 – 30,26 Tage). Die der Patienten in der MELD Niedrig-Gruppe (n=31) lag geschätzt bei 117 Tagen und es traten 23 Ereignisse auf (95% CI 2,97 – 231,04 Tage) (p-Wert< 0,001) (Abbildung 33).

4.7.4.2.2. MELD bei Terlipressinstart

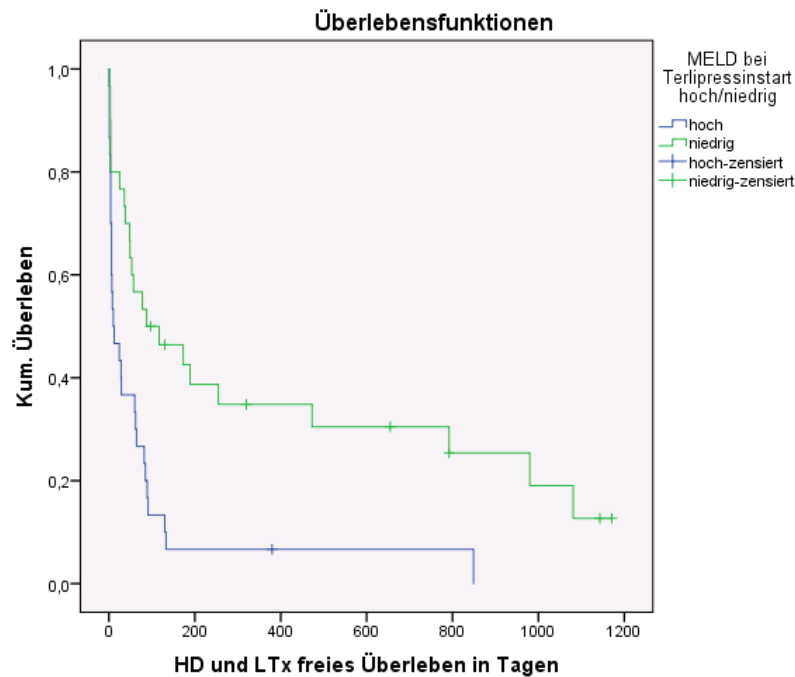


Abbildung 34 Hämodialyse- und lebertransplantationsfreies Überleben nach Breslow unterteilt nach MELD-Score bei Terlipressinstart (p-Wert 0,004)

Die mediane LTX- und RRT freie Zeit der Patienten in der MELD Hoch-Gruppe (n=30) lag geschätzt bei 10 Tagen und es traten 29 Ereignisse auf (95% CI 0 – 32,81 Tage). Die der Patienten in der MELD Niedrig-Gruppe (n=30) lag geschätzt bei 88 Tagen und es traten 23 Ereignisse auf (95% CI 0 – 235,12 Tage) (p-Wert 0,004) (Abbildung 34).

4.7.5. LTX-Kandidat vs. kein LTX-Kandidat

4.7.5.1. Überleben

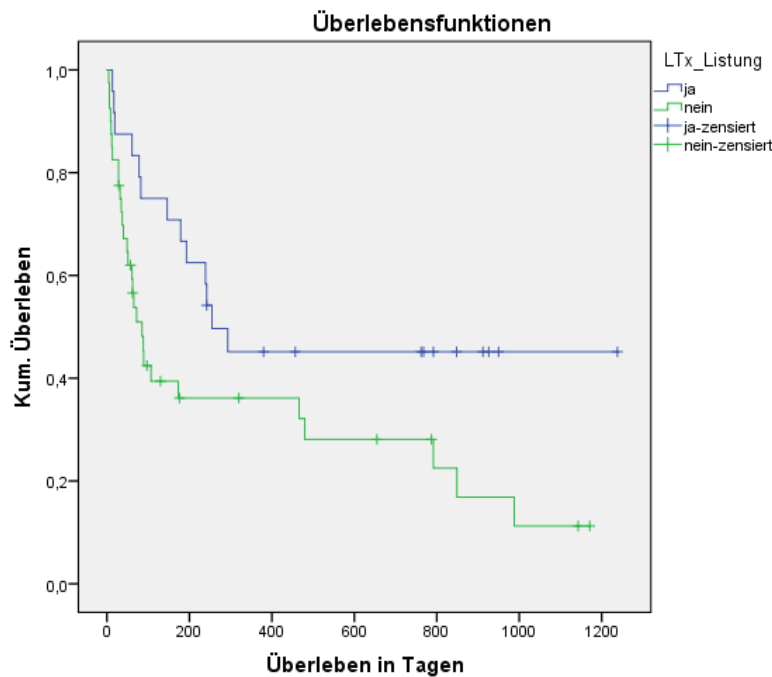


Abbildung 35 Überlebenszeitanalyse nach Breslow unterteilt nach Listung hinsichtlich einer Lebertransplantation (p-Wert 0,028)

Hierbei gehen in der Analyse der LTX-Listung nur 64 Patienten ein, da zusätzlich bei einem Patienten der Status der Listung unbekannt war.

Die mediane Überlebenszeit der Patienten, die für eine Transplantation gelistet waren ($n=24$), lag bei circa 255 Tagen und es traten 13 Ereignisse auf. Die der Patienten, die nicht für eine Transplantation in Frage kamen ($n=40$), lag geschätzt bei 85 Tagen und es traten 29 Ereignisse auf (95% CI 54,59 – 115,41 Tage) (p-Wert 0,028) (Abbildung 35).

4.7.5.2. LTX-/RRT- freies Überleben

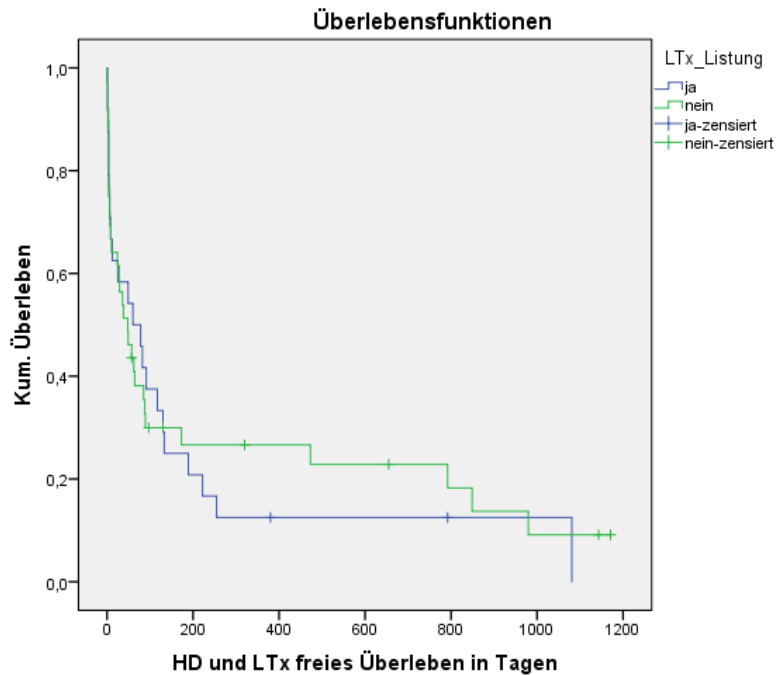


Abbildung 36 Hämodialyse- und lebertransplantationsfreies Überleben nach Breslow unterteilt nach Listung hinsichtlich einer Lebertransplantation (p-Wert 0,983)

Hierbei gehen in der Analyse der LTX-Listung nur 63 Patienten ein, da zusätzlich bei einem Patienten der Status der Listung unbekannt war.

Die mediane LTX- und RRT freie Zeit der Patienten, die für eine Transplantation gelistet waren (n=24), lag geschätzt bei 60 Tagen und es traten 22 Ereignisse auf (95% CI 0 – 128,41 Tage). Die der Patienten, die nicht für eine Transplantation in Frage kamen (n=39), lag bei circa 48 Tagen und es traten 32 Ereignisse auf (95% CI 13,74 – 82,26 Tage) (p-Wert 0,983) (Abbildung 36).

4.7.6. Florider vs. Nicht-florider Alkoholkonsum

4.7.6.1. Überleben

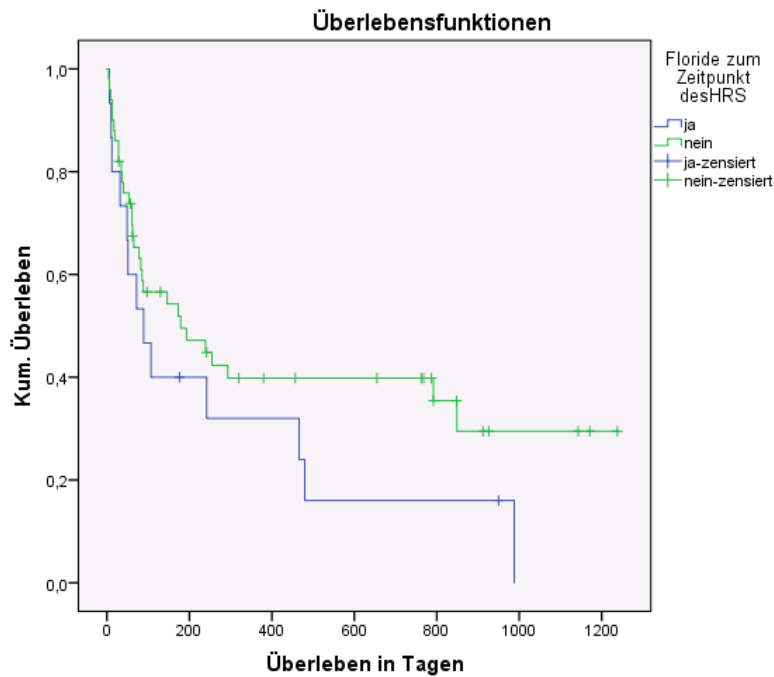


Abbildung 37 Überlebenszeitanalyse nach Breslow unterteilt nach Floridität zum Zeitpunkt des HRS (p-Wert 0,305)

Die mediane Überlebenszeit der Patienten, die zum Zeitpunkt des HRS floride waren (n=15), lag geschätzt bei 89 Tagen und es traten 13 Ereignisse auf (95% CI 18,31 – 159,69 Tage). Die der Patienten, die zu diesem Zeitpunkt nicht floride waren (n=50), lag bei circa 179 Tagen und es traten 30 Ereignisse auf (95% CI 0 – 363,38 Tage) (p-Wert 0,305) (Abbildung 37).

4.7.6.2. LTX-/RRT- freies Überleben

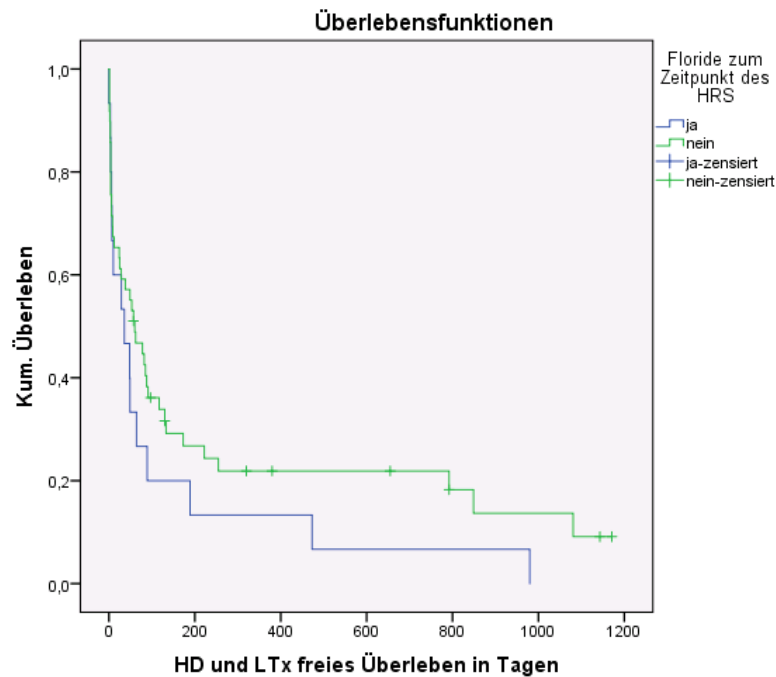


Abbildung 38 Hämodialyse- und lebertransplantationsfreies Überleben nach Breslow unterteilt nach Floridität zum Zeitpunkt des HRS (p-Wert 0,406)

Die mediane LTX- und RRT freie Zeit der Patienten, die zum Zeitpunkt des HRS floride waren (n=15), lag bei ungefähr 36 Tagen und es traten 15 Ereignisse auf (95% CI 0 – 83,97 Tage). Die der Patienten, die zu diesem Zeitpunkt nicht floride waren (n=49), lag geschätzt bei 60 Tagen und es traten 40 Ereignisse auf (95% CI 21,13 – 98,87 Tage) (p-Wert 0,406) (Abbildung 38).

4.7.7. Hämodialyse

4.7.7.1. Überleben

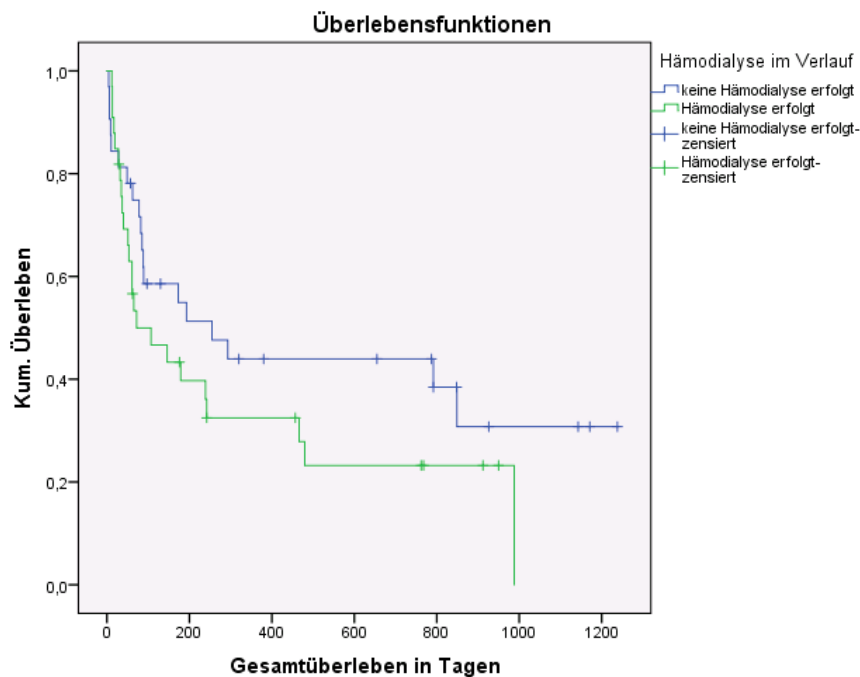


Abbildung 39 Überlebenszeitanalyse nach Breslow unterteilt nach Hämodialyse im Krankheitsverlauf (p-Wert 0,276)

Die mediane Überlebenszeit der Patienten, bei denen die Hämodialyse im Verlauf erfolgt ist (n=33), lag bei circa 72 Tagen und es traten 24 Ereignisse auf (95% CI 0,00 – 183,13 Tage). Die der Patienten, die keiner Hämodialyse im Verlauf unterzogen wurden (n=32), lag ungefähr bei 255 Tagen und es traten 19 Ereignisse auf (95% CI 4,83 – 505,17 Tage) (p-Wert 0,276) (Abbildung 39).

5. Diskussion

5.1. Kritische Beurteilung des Vergleichs der beiden Kohorten

Beim hepatorenenalen Syndrom handelt es sich um eine schwerwiegende Folge einer Leberzirrhose. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt gibt es nur wenige Parameter mit denen die Entwicklung des hepatorenenalen Syndroms abgeschätzt werden kann, ebenso gibt es bisher keine Parameter, die bei Beginn der Erkrankung ein Ansprechen auf die gängige Therapie mit Vasopressinanaloga vorhersagen können. Ziel der vorliegenden Studie war es herauszustellen, ob Zelltodbiomarker als diagnostisches Tool geeignet sind die Entwicklung eines HRS sowie das Ansprechen vor Einleitung der Therapie mit Terlipressin vorherzusagen. Es konnte gezeigt werden, dass Patienten, die auf Therapie ansprachen, deutlich geringere Zelltodbiomarker aufwiesen. Ebenso zeigten Patienten die auf die Therapie angesprochen habe ein besseres Gesamtüberleben. Es konnte jedoch kein direkter Zusammenhang zwischen der Konzentration der Zelltodbiomarker und dem Überleben gezogen werden.

Im Rahmen der Aktualisierung der S2k-Leitlinie der Komplikation der Leberzirrhose 2019 wurden Nierenfunktionseinschränkungen bei Patienten mit Leberzirrhose (HRS und non-HRS) neu definiert. So konnte eine multizentrische Studie zeigen, dass bei ACLF auch extrahepatische Organschädigungen durch Entzündungsprozesse ausgelöst werden können, unter anderem das akute Nierenversagen. Die aktualisierte S2k-Leitlinie unterscheidet daher zwischen HRS AKI und non-HRS AKI. Da sowohl die Probengewinnung, die Einschlusskriterien als auch die Therapie entsprechend der zum Zeitpunkt der Patientenakquise gültigen S3 – Empfehlungen von 2011 erfolgte bezieht sich diese Arbeit ebenso darauf. Die oben genannte Subspezifizierung ist daher nicht durchgeführt worden (32).

Die ätiologischen und biografischen Daten der Fall und Kontrollkohorte unterscheiden sich fundamental in Bezug auf den Fortschritt der Leberzirrhose. Erkennbar ist dies daran, dass in der HRS-Gruppe vor allem Child-Pugh C Score vertreten ist, im Gegensatz zur Kontrollkohorte, bei der vor allem Child A vertreten ist. Alle Patienten der Kontrollgruppe weisen zwar eine gesicherte Leberzirrhose vor, die Erkrankung war bei diesen Patienten aber insgesamt in einem kompensierten Stadium und nachfolgend weisen sie per Definition auch zum größten Teil niedrigere Child-Pugh-Scores vor. Somit bedingt das Ausschlusskriterium der akuten Dekompensation der Leberzirrhose, dass die Kontrollgruppe überwiegend aus

weniger weit fortgeschrittenen Lebererkrankungen besteht. Des Weiteren wurden die Kontrollpatienten ambulant eingeschlossen, sodass die Notwendigkeit einer stationären Aufnahme bedingt durch einen schlechten Allgemeinzustand oder Krankheitsverlauf nicht gegeben war. Daher gehend ist die Auswertung dieser Parameter durch den Selektionsbias erschwert. Dies spiegelt sich in den laborchemischen Parametern ebenfalls wider. Da es sich bei dem HRS um eine Erkrankung in Folge einer dekompensierten Leberzirrhose handelt, sind die leberspezifischen Parameter ebenfalls, per Definition im Vergleich zur Kontrollgruppe, erhöht. Die im Median erhöhten Bilirubinwerte weisen auf eine verminderte Abbauleistung der Leber, die im Median erhöhten INR-Wert weisen aufgrund der mangelnden Gerinnungsfaktoren auf eine verminderte Syntheseleistung hin. Anhand der Grundtabelle lässt sich schließen, dass die Leberfunktion in der HRS Kohorte im Vergleich zur Kontrollkohorte reduziert ist. Diese Parameter sowie der erhöhte Kreatininwert bei Aufnahme spiegeln sich ebenfalls in dem deutlich höheren MELD-Score wider (siehe Tabelle 6). Ebenso deuten erhöhte Leukozyten- und CRP-Werte an, dass bei diesen Patienten ein höheres Niveau an inflammatorischen Prozessen vorliegen könnte. Auch Cervoni et al. und Papp et al. beschreiben, dass Patienten mit fortgeschrittenen Lebererkrankungen und portaler Hypertension ein erhöhtes Entzündungsniveau aufweisen, und dies wiederum einen Einfluss auf den Krankheitsverlauf habe (124, 125). Ebenso verweisen sie in ihrer Arbeit auf andere Studien, in denen gezeigt wurde, dass das erhöhte Entzündungsniveau mit einer erhöhten Komplikationsrate einherginge (124). Eine Studie von Thabut et al. zeigt, dass ein erhöhtes Inflammationsniveau im Zusammenhang mit der schlechten Prognose der Patienten steht, ebenfalls zeigten sie eine Verbindung zwischen dem Vorhandensein einer SIRS und der Entwicklung einer Infektion im stationären Aufenthalt (57). Zu einem ähnlichen Ergebnis kam die Studie von Cazzaniga et al., sie zeige, dass ein erhöhtes Inflammationsniveau bis hin zum SIRS mit einer erhöhten Mortalität und einem erhöhten Risiko für Komplikationsereignisse wie portal-hypertensiven Blutungen vergesellschaftet ist (59). Auch Arroyo et al. beschreiben, dass es eine Korrelation zwischen dem Organversagen und dem Entzündungsniveau der Patienten gibt. (46).

Sowohl M30 als auch M65 waren in der HRS-Kohorte höher als in der Kontrollgruppe (siehe Abbildung 7 und 8). Wie bereits in der Literatordiskussion erwähnt, handelt es sich bei diesen beiden Parametern um Zelltodbiomarker für Apoptose und Nekrose.

Bei Patienten in einem fortgeschrittenen Stadium der Leberzirrhose scheint somit ein erhöhtes Maß an Apoptose und Nekrose-Prozessen abzulaufen. Ursächlich könnte dies durch ein generell fortgeschrittenes Stadium der Leberzirrhose, an einem erhöhten inflammatorischen Level oder an der akuten Dekompensation im Rahmen der HRS-Entwicklung selbst liegen. Kronenberger et al. zeigten bereits an ihrem Patientenkollektiv mit chronischer Hepatitis C, dass Patienten mit fortgeschrittener Fibrosierung höhere M30-Konzentrationen aufwiesen, als diejenigen, die noch keine Fibrose vorweisen (121), ein ähnliches Ergebnis wurde von der Arbeitsgruppe um Farnik et al. dargestellt, sie beschreiben einen Zusammenhang zwischen den Zelltodbiomarkern und dem Fibrosestadium (126). Die Arbeit von Eren et al. konnte an ihrer Patientenkohorte mit chronischer Hepatitis B keinen Zusammenhang zwischen der M30-Konzentration und dem Fibrosegrad feststellen (122). Ebenso ergab eine Studie von Yilmaz et al., dass M30 und M65 bei fortgeschrittener Fibrose höher sind (108). Eine Studie von Joka et al. zeigte Grenzen der jeweiligen Zelltodbiomarker auf. So gelang es mit Hilfe des M65, zwischen allen dort eingeteilten Fibrosestadien zu unterscheiden (schwer, mittel, leicht), mit dem Biomarker M30 konnte lediglich in schwere und nicht-schwere Fibrose differenziert werden (4). Da es zwischen den verschiedenen Studien unterschiedliche Aussagen bezüglich der Assoziation der Höhe der Zelltodbiomarker und der Fibrosestadien gibt, wurde in der vorliegenden Untersuchung eine vergleichende Erhebung einer Kontrollkohorte aus Patienten mit Leberzirrhose aber ohne akute hepatische Dekompensation, insbesondere ohne HRS vorgenommen.

Die Patientenkollektive zeigten eine positive moderate Korrelation zwischen M30/M65 und dem klinisch gebräuchlichen Entzündungsparameter CRP. Hinsichtlich der Leukozytenkonzentration war diese Korrelation nur schwach positiv (siehe Abbildung 9-12). Einen vergleichbaren Zusammenhang zeigte die Studie von Waidmann et al. an Patienten mit diagnostizierter Leberzirrhose ohne Vorhandensein eines primären Leberzellkarzinoms bei Einschluss in die Studie (siehe Tabelle 2 Waidmann et al. (116)). Es liegt zwar ein positiver Korrelationskoeffizient vor, dennoch lässt sich anhand der Patientenkohorte keine klare Schlussfolgerung daraus ziehen, ob die erhöhten M30 und M65- Konzentrationen ausschließlich durch das erhöhte Entzündungsniveau begründet werden können. Es zeigt sich jedoch auch in der univariaten Analyse bezüglich der M30/M65 Klassifikation in hoch und niedrig, dass die CRP-Konzentration sich zwischen den beiden Gruppen

unterscheidet. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass sich Patienten mit erhöhten M30/M65-Werten in einem höheren inflammatorischen Bereich bewegen, als diejenigen mit niedrigen M30/M65-Werten. Ein erhöhter inflammatorischer Status ist mit einer höheren Komplikationsrate und Mortalität vergesellschaftet, somit könnten M30/M65 auch in dieser Hinsicht eine prognostische Relevanz haben, da sie in gewisser Hinsicht das inflammatorische Risiko der Patienten abschätzen (124). Da bereits in anderen Studien das CRP und SIRS als Inflammationsparameter einen nicht unwesentlichen Einfluss auf die Prognose der Patienten hatten (57, 124), wäre es durchaus vorstellbar, neben diesen prognostisch wichtigen Parametern auch M30 und M65 in einen Risikoscore einfließen zu lassen. Hierfür wären weitere Studien wichtig, die zum Einen den Zusammenhang der gängigen Inflammationsparameter und Zelltodbiomarker bestätigen und zum anderen herausfinden untersuchen, ob die Zelltodbiomarker zur Erstellung eines Risikoscores geeignet sind. Abschließend ist noch einmal zu betonen, dass es sich hierbei nur um einen Trend handelt und weitere Arbeiten nötig sind, um herauszufinden, was die erhöhten Zelltodbiomarker bedingt.

5.2. Laborchemische Parameter der HRS-Kohorte sowie deren Therapieansprechen

Wie zu erwarten kam es im Rahmen der Entwicklung des HRS zu einem Anstieg des medianen Kreatininwertes um 26%. Unterteilt man den Kreatininverlauf bei Aufnahme und Terlipressinstart anhand der HRS Gruppierung so verzeichnet die Typ I Gruppe einen medianen Anstieg um 66%, die Typ II Gruppe einen leichten Abfall um 4,4%.

Im Gesamten ließ sich mit der Therapie eine Ansprechrate von 54% aufweisen, bei insgesamt 65 Patienten. 49% der Patienten wiesen dabei ein vollständiges Ansprechen auf. Uriz et al. beschrieben eine Ansprechrate von 78%, dies wurde aber an einer sehr kleinen Kohorte von insgesamt 9 Patienten festgestellt (71). Die Studie von Singh et al. verzeichnet eine Terlipressinansprechrate von 39%, bei insgesamt 23 Patienten (78). Salerno et al. beschreiben eine Ansprechrate von 50%, mit einen vollständigen Ansprechen bei 30% der Patienten. Hierbei ist jedoch anzumerken, dass 2/3 der Patienten nur mit Terlipressin behandelt wurden, die restlichen wurden mit Midodrine/Octreotide behandelt (82). Eine Meta-Analyse von Sagi et al., die 4 RCT-Studien umfasst, zeigte in der Auswertung eine Ansprechrate von 46% der Patienten unter Terlipressintherapie (74). Somit befindet sich die Ansprechrate in der

vorliegenden Untersuchung in einer Bandbreite dessen, was andere Studien bereits beschrieben haben (49).

Durch die Therapie mit Terlipressin konnte die mittlere Serumkreatininkonzentration effektiv gesenkt werden (siehe Abbildung 16), die mediane Kreatininkonzentration bei Terlipressinstart zeigte sich deutlich höher, als bei Beendigung der Therapie. Es konnte eine Reduktion der medianen Kreatininkonzentration um 48% gezeigt werden. Die HRS Typ I Gruppe verzeichnete einen Abfall von 51%, die HRs Typ II Gruppe einen Abfall von 36%. Im Bereich der Therapieansprechergruppe konnte die mediane Kreatininkonzentration um 54% gesenkt werden. In der vorliegenden Kohorte wurde anhand der zum Zeitpunkt der Patientenversorgung aktuellen Leitlinien der HRS Therapie Terlipressin verwendet (31). Einen ähnlich positiven Effekt konnte bei der Harnstoffkonzentration in der Kohorte (siehe Abbildung 18) erzielt werden. Diese lag zu Therapiebeginn im Median deutlich höher als bei Therapieende, durch die Therapie ließ sich eine Reduktion der medianen Harnstoffkonzentration um circa 22% erreichen. Den Effekt der Kreatininwertverbesserung zeigte bereits eine der ersten Studien mit Terlipressin von Uriz et al. Sie beobachteten an ihrer Kohorte von 9 Patienten unter der Therapie mit Terlipressin eine Reduktion der mittleren Serumkreatininwerte von über 50% (71). Auch in einer Studie von Solanki et al. zeigte sich an 12 Patienten eine Reduktion der Kreatininwerte am Ende der Terlipressintherapie von 60% des Ausgangswertes sowie eine Reduktion der Harnstoffkonzentration von 46% (64). Narahara et al. zeigten an ihren 8 Patienten eine Reduktion der Kreatininwerte durch die Therapie um 62%, zudem eine Reduktion der Harnstoffkonzentration um 42% (83). Eine Studie zum Vergleich zwischen Terlipressin und Noradrenalin wurde von Singh et al. durchgeführt, hierbei befanden sich 23 Patienten in der Terlipressinbehandlungsgruppe. Durch die Terlipressintherapie konnte eine Reduktion der mittleren Kreatininwerte von circa 50% beobachtet werden (78). Diesen Sachverhalt bestätigt auch eine Metaanalyse von Dobre et al (80). Zusammenfassend kann durch Terlipressin eine Reduktion der Serumkreatininwerte und eine Rückbildung des Nierenversagens in 55 von 117 Fällen (47%) erreicht werden (80). Ergänzend hierzu verweist die Arbeitsgruppe um Rajekar et al. auf eine Studie der Gruppe um Sanyal et al., in der ermittelt wurde, dass Patienten mit einer Kreatininkonzentration von 5,6 mg/dl vor der Therapie in der Regel kein Ansprechen, beziehungsweise eine Rückbildung des HRS unter Terlipressintherapie zeigten (48).

In unserer Studie zeigte sich ein Ansprechen auf die Therapie von knapp 50%. Die Ermittlung eines solchen cut-off Wertes war nicht Ziel der derzeitigen Fragestellung.

Harnstoff gehört zu den harnpflichtigen Substanzen, die im Eiweißstoffwechsel anfallen, und wird häufig, neben anderen sich kumulierenden Substanzen, mit Symptomen der Urämie assoziiert. Bei Versagen der Therapie kann also die Hämodialyse notwendig werden. Da es sich hierbei um ein invasives Verfahren handelt birgt dies ebenfalls Risiken wie Blutungen oder Infektionen. Demnach ist es durchaus erstrebenswert, ein solch invasives Verfahren, wenn möglich, zu vermeiden (127).

Die Verbesserung der Nierenfunktion führt ebenfalls zu einer Verbesserung des MELD-Scores (siehe Abbildung 19). Da die Kreatininkonzentration eine wichtige Rolle zur Ermittlung des MELD-Scores spielt, und sinngemäß den Status der Nierenfunktion im Labor widerspiegelt, führt eine Verbesserung dieser zwangsläufig zu einem niedrigeren MELD-Score bei Entlassung. Es konnten eine Reduktion des medianen MELD-Scores von 18% zwischen Therapiestart und Entlassung beobachtet werden. Die Verbesserung des MELD-Scores ist unter anderem durch die Senkung der Serumkreatininkonzentration bedingt. Die Kehrseite dieses Effektes ist jedoch, dass die Patienten durch eine Verringerung des MELD-Scores in der Transplantationsdringlichkeit abfallen und somit die Chance auf eine allogene Lebertransplantation sinkt, ebenso wie die 3-Monatsmortalität.

Die Konzentration der beiden Zelltodbiomarker M30 und M65 war bei denjenigen Patienten, die auf die Therapie angesprochen haben, zu Beginn der HRS-Episode, deutlich niedriger waren, als bei denjenigen, die nicht auf die Therapie angesprochen haben (siehe Abbildungen 23,24 und Tabelle 9). Bei beiden Zelltodbiomarkern waren die medianen Werte der Therapieansprecher circa 36% geringer als der Therapieversager. Ebenso hatten die Patienten, die auf die Therapie angesprochen haben, bei Aufnahme und Terlipressinstart einen niedrigeren MELD-Score, als diejenigen, die nicht auf die Therapie ansprachen. Hierbei lagen die Therapieansprecher im Median bei 22 bzw. 24 MELD-Score Punkten, die Therapieversager bei 26 bzw. 29 MELD-Score Punkten. Die Ergebnisse zeigen eine Tendenz, dass es sich bei den Zelltodbiomarkern M30 und M65 um mögliche Prädiktoren für das Therapieansprechen handelt, da Patienten die bei Aufnahme geringere Werte vorweisen konnten, eher auf die Therapie angesprochen haben. Bisher existieren keine allgemein etablierten Prädiktoren für das Ansprechen auf eine

Terlipressin-Therapie. Gines et al. haben als mögliche Prädiktoren ein höheres Alter, eine schwerwiegende Lebergrunderkrankung mit einem Child Score >13 und eine mangelnde Albumingabe während der Therapie identifiziert (45). Bei dem Child-Pugh-Score handelt es sich um einen klinisch-wertvollen Score um den Fortschritt einer Lebererkrankung einzuschätzen. Dieser ist jedoch nur begrenzt objektiv, da er Parameter integriert, die der subjektiven Einschätzung des Untersuchers unterliegen. Ebenso liegt die Diskriminationsweite nur bei 10 Punkten. Daher ist der Child-Pugh-Score als differenzierter prognostischer Marker nur eingeschränkt geeignet. Lata et al. beschreibt, dass die zuverlässigsten Marker auf das Ansprechen der Therapie das initiale Serumkreatinin, Bilirubin und der Anstieg des MAP bis Tag 3 der Behandlung über 5 mmHg seien (3). Cai et al. konnten ebenfalls zeigen, dass ein Anstieg des MAP um mehr als 10 mmHg mit einem besseren Überleben assoziiert ist (65). Cavallin et al. verwiesen ebenfalls auf einen Mindestanstieg des MAP bis Tag 3 der Behandlung über 5 mmHg (66). Nazar et al. verwiesen auf das Serumbilirubin, hierbei legten sie einen cut-off Wert von 10 mg/dl fest, und einen Anstieg des MAP von 5 mmHg an Tag 3 der Therapie als Faktoren, die auf das Therapieansprechen hindeuten (128). Häufig wird der mittlere arterielle Druck herangezogen, um das Ansprechen der Therapie einzuschätzen, da eine Erhöhung des mittleren arteriellen Druckes zu einer verbesserten Nierenperfusion führt und somit auch zu einer Verbesserung der funktionellen Niereneinschränkung, die durch das HRS bedingt ist. Scheinbar handelt es sich hierbei um einen Parameter, der während der Therapie sehr gut das Ansprechen abschätzen kann, jedoch wäre es ein deutlicher Zeitgewinn, wenn bereits vor der Therapie abzuschätzen wäre, ob die Patienten von der Therapie mit Terlipressin profitieren werden. Weiterhin ist für die exakte Messung des mittleren arteriellen Druck eine invasive intraarterielle Druckmessung erforderlich, die im vorliegenden Kollektiv nicht regelhaft während der Behandlung mit Terlipressin durchgeführt wurde. Salerno et al. beschreiben darüber hinaus, dass das Alter ein unabhängiger Prädiktor für das Therapieansprechen sei (82). Singh et al. zeigten in ihrer multivariaten Analyse, dass das Therapieansprechen nur mit ihrem Child-Score assoziiert war (78). Dieser wurde an Tag 1 als Prädiktor für Therapieansprechen herangezogen. Sie diskutieren gleichzeitig, dass dieser mit einer Vasokonstriktion in der Niere sowie einer Vasodilatation im Splanchnikusgebiet vergesellschaftet sei (78). Ghosh et al. schlussfolgerten aus ihren Resultaten bei Patienten mit HRS Typ II, dass das Kreatinin, die Urinausscheidungsmenge und die Urinnatriumkonzentration zu den prädiktiven Faktoren bezüglich des

Therapieansprechens zählen würden (94). Cavallin et al. fanden in ihrer multivariaten Analyse als einzigen unabhängigen Faktor, der das Ansprechen vorhersagen würde, den MELD-Score bei Aufnahme (70). Dieser zeigte auch eine Differenz zwischen den Therapieansprechern und Therapieversagern. Bezüglich des Therapieansprechens zeigte sich kein Unterschied zwischen den Gruppe HRS Typ I und II, beide verzeichneten eine ähnliche Rate an Therapieansprechern und Therapieversagern (siehe Tabelle 9).

Anschließend war zu evaluieren, ob Patienten, innerhalb der HRS Kohorte, mit höheren Zelltodbiomarkern einen relevanten Unterschied zu den Patienten mit niedrigen Zelltodbiomarkern bei den bisher erhobenen Labor und ätiologischen Parametern verzeichnen. Zwei weitere univariate Analysen, die verschiedene Faktoren anhand der Gruppierung nach M30/M65 hoch/niedrig analysierten, zeigten, dass in der M30/M65 hoch-Gruppe zum Zeitpunkt des HRS deutlich mehr Patienten floride waren. Es ließen sich bei diesen Patienten höhere Bilirubinwerte bei Aufnahme, unter anderem daraus resultierend einen erhöhten MELD-Score bei Aufnahme und Therapiestart sowie höhere CRP-Werte bei Aufnahme und Therapiestart feststellen. Diese festigen die Hypothese, welche sich bereits durch die Korrelationsanalysen zeigte, dass ein höheres Inflammationsniveau mit einer Erhöhung der Zelltodbiomarker einhergeht. Da bei dieser Analyse die HRS-Kohorte betrachtet wird und diese zum Großteil aus Patienten mit Child B und C besteht, ist zumindest die Verzerrung, die bei der Kontrollgruppe vorhanden war, reduziert. Es lässt sich aufgrund der univariaten Analyse nicht ausschließen, dass die erhöhten Zelltodbiomarker nicht auch durch den Fortschritt der Lebererkrankung bedingt sind. Die erhöhten Bilirubinwerte und somit auch der erhöhte MELD-Score könnten repräsentativ für das fortgeschrittene Krankheitsstadium stehen. Somit lässt sich anhand dieser Auswertung kein eindeutiger Rückschluss darauf ziehen, was genau die erhöhten Zelltodbiomarker M30 und M65 bedingt, es ist dennoch ein wichtiger Hinweis, der bereits durch die univariate Analyse aufkam, der Gegenstand zukünftiger Forschung sein könnte.

5.3. Faktoren, die im Zusammenhang mit dem Gesamtüberleben stehen

Betrachtet man die M30 und M65 Konzentration in der univariaten Analyse aufgeführt nach überlebenden und verstorbenen Patienten so zeigt sich kein relevanter Unterschied in den beiden Gruppen (siehe Tabelle 12). Betrachtet man die Kreatininkonzentration zu Beginn der Therapie, so verzeichneten die überlebenden

Patienten deutlich niedrigere Werte als die Verstorbenen (siehe Tabelle 12). Boyer et al. verweisen darauf, dass Terlipressin bei Patienten mit einem Serumkreatinin über 7 mg/dl keine Verbesserung der Nierenfunktion oder eine Verbesserung der Überlebensrate zeigt (129). Möglicherweise kam es durch die Intensität der funktionellen Einschränkung der Niere zu einer strukturellen Schädigung, sodass eine Verbesserung der Nierenperfusion nur eine eingeschränkte Verbesserung der Nierenfunktion erzielte. Um diese Vermutung zu bestätigen wird eine pathologische Aufarbeitung einer Biopsie benötigt, um strukturelle Schäden nachzuweisen. Die Arbeit von Boyer et al. beschreibt, dass bereits eine schlechte Ausgangsfunktion der Niere eine Verbesserung durch die Therapie verhindert (129). In diesem Zusammenhang wäre es durchaus interessant einen Risikoscore zu etablieren, der bereits vor Therapie das Überleben und die Funktionsverbesserung durch die Therapie abschätzt. Hierzu werden cut-off Werte der relevanten laborchemischen Parameter benötigt. Die Überlebenszeitanalyse differenziert nach dem Median der angewendeten Zelltodbiomarkern M30 und M65 ließ kein Rückschluss auf das Gesamtüberleben zu. Da in dieser Analyse der primäre Endpunkt mit dem Tod des Patienten festgelegt wurde, gehen Therapiemaßnahmen wie Nierenersatzverfahren sowie Lebertransplantation in diese Analyse nicht ein. Es zeigt sich jedoch anhand der weiteren Darstellung bezüglich des LTX-/RRT freien Überlebens, dass Patienten mit höheren Zelltodbiomarkern früher einer Intervention bedürfen. Die Überlebenszeitanalyse hinsichtlich einer Intervention mittels Hämodialyse zeigt in Bezug auf das Gesamtüberleben der Patienten, dass die mediane Überlebenszeit der Patienten mit Hämodialyse niedriger ist, als dasjenige der Patienten ohne Hämodialyse (72 vs. 255 Tage), jedoch lag der p-Wert bei 0,276 (siehe Abbildung 39). In dem untersuchten Patientenkollektiv lag die mediane Überlebenszeit der Therapieansprecher bei 255 Tagen, die der Therapieversager bei 85 Tagen (siehe Abbildung 25). Die Arbeitsgruppe um Ortega et al. (2002) zeigte eine mediane Überlebenszeit von 50 Tagen in der Therapieansprechergruppe, von 14 Tagen in der Therapieversagergruppe, hierbei war ebenfalls ein Kollektiv aus HRS Typ I und II untersucht worden. Der Vergleich zwischen diesen beiden Ergebnissen demonstriert wie sehr sich die Therapie dieser Erkrankung gewandelt hat und daraus resultierend ein besseres Gesamtüberleben erzielt werden kann (69). Das Kollektiv lässt also vermuten, dass Patienten, die auf die Therapie angesprochen haben, ein besseres Gesamtüberleben vorweisen im Vergleich zu den Patienten, die nicht auf die Therapie angesprochen haben. Dies zeigte sich auch in einer Metaanalyse von

Salerno et al (54). Auch andere Studien konnten darlegen, dass es sich bei dem Therapieansprechen um einen Faktor handelt, der deutlichen Einfluss auf das Gesamtüberleben hat, beziehungsweise es sogar möglicherweise vorhersagen kann (49, 70, 128). Einen ähnlichen Verlauf konnte auch bei den Patienten mit einem niedrigen MELD-Score bei Aufnahme und Therapiestart beobachtet werden (siehe Abbildungen 31 und 32), ein Resultat, das auch in anderen Studien wiederzufinden ist (49). Die mediane Überlebenszeit der Patienten bezüglich des MELD-Scores bei Aufnahme lag in der MELD –Score > 23 (MELD Hoch-Gruppe) geschätzt bei 72 Tagen, die der Patienten in der MELD-Score <23 (MELD Niedrig-Gruppe) bei circa 466 Tagen (siehe Abbildung 31). Die mediane Überlebenszeit der Patienten bezüglich des MELD-Scores bei Therapiestart betrug in der MELD Hoch-Gruppe circa 82 Tagen, die der Patienten in der MELD Niedrig-Gruppe lag geschätzt bei 466 Tagen (siehe Abbildung 32). Diese Daten bestätigen erneut die klinische Relevanz des MELD-Scores, da dieser entwickelt wurde, um eine unabhängige Einschätzung der Mortalität der Patienten auf der Transplantationsliste zu erhalten. Das Patientenkollektiv bestätigt, dass ein niedrigerer MELD-Score, somit eine bessere Nieren- und Lebersynthesefunktion, mit einem besseren Gesamtüberleben assoziiert ist. Des Weiteren zeigte sich in der Kohorte ein besseres Gesamtüberleben unter denjenigen Patienten, die zur Lebertransplantation gelistet waren. Gründe hierfür könnten die Richtlinien zur Listung der Patienten geben. In der Juni Ausgabe des Deutschen Ärzteblattes 2017 wird darauf verwiesen, dass es eine Überarbeitung der Richtlinien zur Organtransplantation gibt. In diesen steht geschrieben, dass Kontraindikationen für eine Listung Befunde sind, die das Risiko der Operation erhöhen oder den Transplantationserfolg verringern können (130). Beispielhaft werden verschiedene gravierende Komorbiditäten oder eine unter immunsupprimierender Therapie sich verschlechternde immunsuppressive verschlechternde Infektionskrankheit genannt. Ebenso wird der floride Alkoholkonsum als Kontraindikation gesehen (130). Somit könnten die Mortaliätsdifferenzen zwischen den beiden Gruppen, der gelisteten und nicht gelisteten Patienten, auf einen bereits prätherapeutischen besseren klinischen und allgemeinen Zustand zu Gunsten der gelisteten Patienten zurückführbar sein. Berücksichtigt werden muss dennoch, dass einige dieser Patienten ebenfalls einer Transplantation unterzogen wurden, und dadurch die Zirrhose geheilt wurde und das Überleben sich verbesserte.

Ortega et al. Ermittelten den Child-Pugh-Score vor Therapie und die Verwendung von Albumin in der Therapie als Faktoren, die das Gesamtüberleben der Patienten beeinflussen (69). Heidemann et al. arbeiteten an ihrer Kohorte verschiedene Faktoren heraus, die das Überleben der Patienten verschlechterten, hierzu zählen: der Alkoholabusus, das Alter, der MELD-Score sowie eine kürzere Therapiedauer (49). Cavallin et al. zeigten, dass CLIF-C ACLF Score und das Therapieansprechen unabhängige Faktoren, die die 90-Tage-Überlebensrate abschätzen, seien (70). Hierbei handelt es sich um einen Score, der primär für die Einschätzung des akut auf chronischen Leberversagens entwickelt wurde. In einer Übersichtsarbeit von Rajekar et al. verweisen diese auf verschiedenen Arbeiten, die sich unter anderem mit prädiktiven Faktoren auseinander gesetzt haben. Zum einen durch die Arbeitsgruppe um Colle et al. ermittelte Faktoren wie eine Mindestmenge des Terlipressins von 3mg/Tag, ein fehlender auslösender Faktor des HRS sowie eine unter Terlipressintherapie sich verbessernde Nierenfunktion (48). Zum Anderen noch auf die Arbeitsgruppe um Moreau et al., die als negativen prognostischen Faktor des Gesamtüberlebens die Verringerung des Serumkreatinins $\leq 20\%$ sowie ein Child-Pugh-Score ≥ 11 an Tag 0 sehen (48). Des Weiteren wird in der Reviewarbeit noch die Studie von Sanyal et al. erwähnt, die als negative prädiktive Faktoren den MELD-Score, die alkoholische Hepatitis, den CTP Score sowie die Kreatininkonzentration bei Beginn ermittelten (48). Für Salerno et al. sind das Alter, die Bilirubinkonzentration, sowie wie der Verlauf der Kreatininkonzentration nach Expansion Faktoren, die die 3-Monatsmortalität beeinflussen können (82).

Zusammengefasst zeigt sich, dass die Kohorte die bereits bestehenden prädiktiven Faktoren bezüglich des Gesamtüberlebens der Patienten unter Terlipressintherapie bestätigt. Wie bereits beschrieben, zeigt sich auch in der univariaten Analyse, dass die Kreatininkonzentration ein Hinweis auf ein schlechteres Überleben sein kann. Hierbei könnte der Zusammenhang ab welcher Startkonzentration des Kreatinins keine Verbesserung des Gesamtüberlebens erzielt werden kann, trotz Therapie, ein interessanter Aspekt zukünftiger Forschung sein. Dies würde zur Folge haben, dass denjenigen Patienten früher ein Nierensatzverfahren empfohlen wird. Ebenso ist bereits vorbeschrieben, dass ein Therapieansprechen mit einem besseren Überleben der Patienten assoziiert wird, dies konnte am vorliegenden Patientenkollektiv bestätigt werden. Gleiches gilt für den MELD-Score, der bereits häufiger in Studien als prädiktiver Faktor erwähnt wurde. Es zeigte sich eine bessere Überlebensrate in

der Patientengruppe mit niedrigen MELD-Scores sowohl bei Aufnahme als auch bei Therapiestart. Bisher noch nicht beschrieben, beziehungsweise subgruppiert waren Patienten, die auf der Transplantationsliste standen. Diese weisen in der Kohorte ebenfalls ein besseres Outcome vor, als diejenigen, die nicht auf dieser gelistet wurden. Dieses Ergebnis ist jedoch unter Vorbehalt, da durch die Transplantation die Grunderkrankung geheilt wird.

5.4. Faktoren, die im Zusammenhang mit dem LTX-/RRT freien Überleben stehen

Die Metaanalyse von Sagi et al. zeigt, dass Patienten, die mit Terlipressin behandelt wurden, ein zweimal so langes transplantationsfreies Überleben im Vergleich zu einer Kontrollgruppe vorweisen konnten (74). Diejenigen Patienten, die sich in der M30 und M65 niedrig-Gruppe befanden, konnten über den beobachteten Zeitraum ein längeres LTX- und RRT freies Überleben vorweisen, als die Patienten aus der hoch-Gruppe (siehe Abbildung 28 und 30). Das Gleiche konnten in dem Patientenkollektiv, die auf die Therapie angesprochen hatten, aufgezeigt werden (siehe Abbildung 26). Ein ähnliches Ergebnis konnte bereits die Studie von Cavallin et al., die den Unterschied zwischen kontinuierlicher- und Bolusgabe herausfinden wollte, demonstrieren. Hierbei zeigte sich ein besseres 90-Tage-transplantationsfreies Überleben bei der Gruppe der Therapieansprecher (70% zu 41%) (70). Nach der Definition des Therapieansprechens handelt es sich hierbei um eine Reduktion der Ausgangskonzentration des Kreatinins unter 1,5 mg/dl. Eine Reduktion harnpflichtiger Substanzen wie dem Kreatinin lässt eine Verbesserung der Ausscheidungsfunktion der Niere schlussfolgern. Somit werden auch andere Substanzen vermehrt eliminiert, die eine Indikation zur Hämodialyse stellen würden. Wie bereits beim Therapieansprechen zeigt auch in dieser Kategorie ein niedrigerer MELD- Score bei Aufnahme und Terlipressintherapiebeginn einen positiven Effekt auf das LTX- und RRT freie Überleben (siehe Abbildung 33 und 34). Ein niedriger MELD-Score bedeutet für den klinischen Alltag, dass der Patient über eine bessere Nieren- und Leberfunktion verfügt, als Patienten die einen hohen MELD-Score aufweisen. Die Nierenfunktion wird mit Hilfe der Kreatininkonzentration abgeschätzt. Eine schlechte Nierenfunktion bedingt eine schlechte Ausscheidung harnpflichtiger Substanzen. Die Patienten entwickeln Symptome der Urämie, Entgleisungen des Elektrolythaushaltes, insbesondere des Kaliums, sowie eine schlechtere Wasserelimination mit nachfolgender Einlagerung, z.B. in Form von Ödemen. Dies sind alles Indikationen für eine Hämodialyse (127). Somit ist es nachvollziehbar, dass

Patienten, die zu Therapiebeginn einen besseren MELD-Score besitzen, eine geringere Wahrscheinlichkeit haben ein Nierenersatzverfahren zu durchlaufen, als Patienten mit schlechtem. Ebenfalls wird das längere LTX-freie Überleben durch die Funktion des MELD-Scores erklärt. Da dieser die Mortalität auf der Warteliste für eine Lebertransplantation abschätzt, haben Patienten mit niedrigen Werten auch eine geringe Mortalität und somit eine niedrigere Priorität für eine Organtransplantation.

Zusammenfassend zeigte sich, dass sowohl niedrigere M30 und M65 Konzentrationen, das Therapieansprechen und niedrigere MELD-Scores bei Aufnahme und Terlipressinstart ein besseres LTX und RRT freies Überleben vorweisen.

5.5. Fehlerdiskussion

Im Rahmen des Forschungsprojektes haben wir einige mögliche Fehlerquellen und Optimierungsmöglichkeiten in dem Design und der Durchführung der Studie identifizieren können.

Es gibt verschiedene Fehlerquellen, die im Rahmen der laborchemischen Analyse auftreten können. Unterschiede zwischen den Patienten sowie der Blutentnahmetechnik in der präanalytischen Phase können Einfluss auf die analytische Phase nehmen, beispielhaft wäre hier eine hämolytische Probe zu erwähnen. Um dies zu vermeiden wurde ein standardisierter Ablauf etabliert (siehe Abbildung 5 und Abschnitt 3.3). Es wurde unter anderem die Blutentnahme durch die gleiche Person durchgeführt, ebenso wie die Probenverarbeitung nach Akquise der Blutprobe. Zur Kosteneffektiven Verarbeitung der Proben mussten diese zunächst tiefgefroren werden um eine späte Verarbeitung möglich zu machen. Es ist nicht abzuschätzen, welcher Effekt das Gefrieren der Proben sowie das Auftauen vor Analyse auf die gemessenen Proteinkonzentrationen hat. Dies könnte einen Einfluss auf die absolut gemessenen Werte haben und die Beurteilbarkeit hinsichtlich eines cut-off Wertes erschweren. Des Weiteren würde die statistische Power durch Vergrößerung der Fallzahl steigen, hierfür würden multizentrische Studien notwendig sein um die Tendenz dieser Ergebnisse zu verifizieren. Der Benefit einer multizentrischen Studie zeigt sich in der Akquise einer größeren Patientenzahl und nachfolgend auch einer größeren Probenmengen sowohl bezüglich der HRS Gruppe als auch der Kontrollgruppe.

6. Zusammenfassung

Das HRS ist eine Folgeerkrankung der Leberzirrhose, die mit einer hohen Mortalität der Patienten einhergeht. Umso entscheidender ist es, dieses früh zu diagnostizieren und adäquat zu therapieren, denn binnen Tagen können nicht behandelte Patienten versterben. Ein frühzeitiges Erkennen des Therapieansprechens und die damit zusammenhängende Prognose der Patienten kann ein entscheidender Vorteil sein.

Es konnte gezeigt werden, dass die Therapie mit Terlipressin eine effektive Verbesserung der Nierenfunktion erzielt werden und somit auch eine Verbesserung des klinischen Zustandes der Patienten.

Ziel dieser Arbeit war es daher, bereits in anderen Arbeitsfeldern versuchte Zelltodbiomarker M30 und M65 im klinischen und laborchemischen Kontext mit dem HRS zu evaluieren, ob dieser als möglicher prädiktiver Faktor des Ansprechens sowie der Überlebenszeitanalyse fungieren kann.

Im Vergleich zu den Kontrollpatienten mit Leberzirrhose ohne HRS waren neben den gängigen Laborparametern auch die Zelltodbiomarker erhöht, sodass von einem höheren Inflammationsniveau zu Beginn der HRS Episoden auszugehen ist. Ein höheres Inflammationsniveau geht mit einer erhöhten Komplikationsrate einher (124).

Bei den Vergleichen innerhalb der HRS-Kohorte ist ersichtlich, dass diejenigen mit erhöhten Zelltodbiomarkern ebenfalls erhöhte Werte hinsichtlich der gängigen Entzündungsparameter aufwiesen. Neben diesen zeigte sich auch ein höherer MELD-Wert, welcher repräsentativ für ein fortgeschritteneres Erkrankungsstadium spricht.

Diejenigen Patienten die auf die Therapie ansprachen, hatten im Median niedrigere M30 und M65 Konzentrationen, sowie einen niedrigeren MELD-Score bei Aufnahme und Terlipressintherapiestart. Der MELD-Score war bereits Gegenstand anderer Studien bezüglich des Ansprechens auf Therapie (70).

Es konnte kein Zusammenhang zwischen höheren M30 und M65 Konzentrationen und einem geringerem Gesamtüberleben gefunden werden. Es zeigte sich jedoch deutlich, dass diejenigen Patienten mit höheren Zelltodbiomarkern früher einer Lebertransplantation oder einem Nierenersatzverfahren unterzogen wurden, sodass von einem klinisch fulminanteren Verlauf auszugehen war. Ein Ansprechen auf

Therapie, sowie ein niedrigerer MELD-Score zeigte einen Benefit hinsichtlich des Gesamtüberlebens (49, 54).

Zusammenfassend konnten bereits viele verschiedene Studien eine Assoziation für M30 und M65 und klinischen Parametern in unterschiedlichen Lebererkrankungen aufgezeigt werden. In der vorliegenden Patientenkohorte zeigten sie hinsichtlich bestimmter Aspekte und Fragestellungen eine Unterscheidungstendenz, diese jedoch an größeren Studien verifiziert werden müsste. Da es sich um einen minimal-invasiven Messparameter handelt und dieser einfach und schnell zu bestimmen wäre, hätte er durchaus Vorteile gegenüber anderen prädiktiven Faktoren.

Quellenverzeichnis

1. Egerod Israelsen M, Gluud LL, Krag A. Acute kidney injury and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2015;30(2):236-43.
2. Fabrizi F, Aghemo A, Messa P. Hepatorenal syndrome and novel advances in its management. *Kidney Blood Press Res.* 2013;37(6):588-601.
3. Lata J. Hepatorenal syndrome. *World J Gastroenterol.* 2012;18(36):4978-84.
4. Joka D, Wahl K, Moeller S, Schlue J, Vaske B, Bahr MJ, et al. Prospective biopsy-controlled evaluation of cell death biomarkers for prediction of liver fibrosis and nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2012;55(2):455-64.
5. Bantel H, Luger A, Heidemann J, Volkmann X, Poremba C, Strassburg CP, et al. Detection of apoptotic caspase activation in sera from patients with chronic HCV infection is associated with fibrotic liver injury. *Hepatology.* 2004;40(5):1078-87.
6. Wieckowska A, Zein NN, Yerian LM, Lopez AR, McCullough AJ, Feldstein AE. In vivo assessment of liver cell apoptosis as a novel biomarker of disease severity in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2006;44(1):27-33.
7. Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet (London, England).* 2008;371(9615):838-51.
8. WHO. ICD-11 for Mortality and Morbidity Statistics 04/2019 [updated 06.02.2020]. Available from: <https://icd.who.int/browse11/l-m/en#/http%3a%2f%2fid.who.int%2fclid%2fentity%2f1781315693>.
9. Zatonski WA, Sulkowska U, Manczuk M, Rehm J, Boffetta P, Lowenfels AB, et al. Liver cirrhosis mortality in Europe, with special attention to Central and Eastern Europe. *Eur Addict Res.* 2010;16(4):193-201.
10. Bell BP, Manos MM, Zaman A, Terrault N, Thomas A, Navarro VJ, et al. The epidemiology of newly diagnosed chronic liver disease in gastroenterology practices in the United States: results from population-based surveillance. *Am J Gastroenterol.* 2008;103(11):2727-36; quiz 37.
11. Wiegand J, Berg T. The etiology, diagnosis and prevention of liver cirrhosis: part 1 of a series on liver cirrhosis. *Dtsch Arztebl Int.* 2013;110(6):85-91.
12. Tannapfel A, Dienes HP, Lohse AW. The indications for liver biopsy. *Dtsch Arztebl Int.* 2012;109(27-28):477-83.
13. Peng Y, Qi X, Guo X. Child-Pugh Versus MELD Score for the Assessment of Prognosis in Liver Cirrhosis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(8):e2877.
14. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *The British journal of surgery.* 1973;60(8):646-9.
15. Durand F, Valla D. Assessment of the prognosis of cirrhosis: Child-Pugh versus MELD. *J Hepatol.* 2005;42 Suppl(1):S100-7.
16. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, Kremers W, Therneau TM, Kosberg CL, et al. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology.* 2001;33(2):464-70.
17. Manns MP. Liver cirrhosis, transplantation and organ shortage. *Dtsch Arztebl Int.* 2013;110(6):83-4.
18. Schlitt HJ, Loss M, Scherer MN, Becker T, Jauch KW, Nashan B, et al. [Current developments in liver transplantation in Germany: MELD-based organ allocation and incentives for transplant centres]. *Z Gastroenterol.* 2011;49(1):30-8.
19. Malinchoc M, Kamath PS, Gordon FD, Peine CJ, Rank J, ter Borg PC. A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology.* 2000;31(4):864-71.

20. Said A, Williams J, Holden J, Remington P, Gangnon R, Musat A, et al. Model for end stage liver disease score predicts mortality across a broad spectrum of liver disease. *J Hepatol.* 2004;40(6):897-903.
21. Bosch J, Berzigotti A, Garcia-Pagan JC, Abraldes JG. The management of portal hypertension: rational basis, available treatments and future options. *J Hepatol.* 2008;48 Suppl 1:S68-92.
22. Minano C, Garcia-Tsao G. Clinical pharmacology of portal hypertension. *Gastroenterol Clin North Am.* 2010;39(3):681-95.
23. Iwakiri Y. Pathophysiology of portal hypertension. *Clin Liver Dis.* 2014;18(2):281-91.
24. Bosch J, García-Pagán JC. Prevention of variceal rebleeding. *The Lancet.* 2003;361(9361):952-4.
25. Janicko M, Veseliny E, Abraldes JG, Jarcuska P. Serum sodium identifies patients with cirrhosis at high risk of hepatorenal syndrome. *Z Gastroenterol.* 2013;51(7):628-34.
26. de Franchis R, Dell'Era A, Iannuzzi F. Diagnosis and treatment of portal hypertension. *Dig Liver Dis.* 2004;36(12):787-98.
27. D'Amico G, Garcia-Pagan JC, Luca A, Bosch J. Hepatic vein pressure gradient reduction and prevention of variceal bleeding in cirrhosis: a systematic review. *Gastroenterology.* 2006;131(5):1611-24.
28. D'Amico G, Pagliaro L, Bosch J. Pharmacological treatment of portal hypertension: an evidence-based approach. *Semin Liver Dis.* 1999;19(4):475-505.
29. de Franchis R, Baveno VF. Revising consensus in portal hypertension: report of the Baveno V consensus workshop on methodology of diagnosis and therapy in portal hypertension. *J Hepatol.* 2010;53(4):762-8.
30. Ginès P, Fernández J, Durand F, Saliba F. Management of critically-ill cirrhotic patients. *Journal of Hepatology.* 2012;56:S13-S24.
31. Gerbes AL, Gulberg V, Sauerbruch T, Wiest R, Appenrodt B, Bahr MJ, et al. [German S 3-guideline "ascites, spontaneous bacterial peritonitis, hepatorenal syndrome"]. *Z Gastroenterol.* 2011;49(6):749-79.
32. Gerbes AL, Labenz J, Appenrodt B, Dollinger M, Gundling F, Gulberg V, et al. [Updated S2k-Guideline "Complications of liver cirrhosis". German Society of Gastroenterology (DGVS)]. *Z Gastroenterol.* 2019;57(5):611-80.
33. Runyon BA. Management of adult patients with ascites caused by cirrhosis. *Hepatology.* 1998;27(1):264-72.
34. Dahl E, Gluud LL, Kimer N, Krag A. Meta-analysis: the safety and efficacy of vaptans (tolvaptan, satavaptan and lixivaptan) in cirrhosis with ascites or hyponatraemia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012;36(7):619-26.
35. European Association for the Study of the L. EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *J Hepatol.* 2010;53(3):397-417.
36. Gines P, Cardenas A, Arroyo V, Rodes J. Management of cirrhosis and ascites. *The New England journal of medicine.* 2004;350(16):1646-54.
37. Caraceni P, Domenicali M, Tovoli A, Napoli L, Ricci CS, Tufoni M, et al. Clinical indications for the albumin use: still a controversial issue. *Eur J Intern Med.* 2013;24(8):721-8.
38. Krowka MJ, Dickson ER, Cortese DA. Hepatopulmonary syndrome. Clinical observations and lack of therapeutic response to somatostatin analogue. *Chest.* 1993;104(2):515-21.
39. Fallon MB. Mechanisms of Pulmonary Vascular Complications of Liver Disease: Hepatopulmonary Syndrome. *Journal of Clinical Gastroenterology.* 2005;39(4):S138-S42.

40. American Association for the Study of Liver D, European Association for the Study of the L. Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 practice guideline by the European Association for the Study of the Liver and the American Association for the Study of Liver Diseases. *J Hepatol.* 2014;61(3):642-59.
41. McAvoy NC, Hayes PC. Hepatic encephalopathy. *Medicine.* 2007;35(2):108-11.
42. Butterworth RF. Complications of cirrhosis III. Hepatic encephalopathy. *J Hepatol.* 2000;32(1 Suppl):171-80.
43. Vilstrup H, Amodio P, Bajaj J, Cordoba J, Ferenci P, Mullen KD, et al. Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the European Association for the Study of the Liver. *Hepatology.* 2014;60(2):715-35.
44. Wright G, Jalan R. Management of hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2007;21(1):95-110.
45. Ginès P, Guevara M, Arroyo V, Rodés J. Hepatorenal syndrome. *The Lancet.* 2003;362(9398):1819-27.
46. Arroyo V, Garcia-Martinez R, Salvatella X. Human serum albumin, systemic inflammation, and cirrhosis. *J Hepatol.* 2014;61(2):396-407.
47. Angeli P, Merkel C. Pathogenesis and management of hepatorenal syndrome in patients with cirrhosis. *J Hepatol.* 2008;48 Suppl 1:S93-103.
48. Rajekar H, Chawla Y. Terlipressin in hepatorenal syndrome: Evidence for present indications. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011;26 Suppl 1:109-14.
49. Heidemann J, Bartels C, Berssenbrugge C, Schmidt H, Meister T. Hepatorenal syndrome: outcome of response to therapy and predictors of survival. *Gastroenterol Res Pract.* 2015;2015:457613.
50. Gines P, Guevara M. Therapy with vasoconstrictor drugs in cirrhosis: The time has arrived. *Hepatology.* 2007;46(6):1685-7.
51. Krag A, Bendtsen F, Henriksen JH, Moller S. Low cardiac output predicts development of hepatorenal syndrome and survival in patients with cirrhosis and ascites. *Gut.* 2010;59(1):105-10.
52. Dagher L, Moore K. The hepatorenal syndrome. *Gut.* 2001;49(5):729-37.
53. Arroyo V, Gines P, Gerbes AL, Dudley FJ, Gentilini P, Laffi G, et al. Definition and diagnostic criteria of refractory ascites and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *International Ascites Club. Hepatology.* 1996;23(1):164-76.
54. Salerno F, Navickis RJ, Wilkes MM. Albumin treatment regimen for type 1 hepatorenal syndrome: a dose-response meta-analysis. *BMC Gastroenterol.* 2015;15:167.
55. Arroyo V, Jimenez W. Complications of cirrhosis. II. Renal and circulatory dysfunction. Lights and shadows in an important clinical problem. *J Hepatol.* 2000;32(1 Suppl):157-70.
56. Moller S, Krag A, Bendtsen F. Kidney injury in cirrhosis: pathophysiological and therapeutic aspects of hepatorenal syndromes. *Liver Int.* 2014;34(8):1153-63.
57. Thabut D, Massard J, Gangloff A, Carbonell N, Francoz C, Nguyen-Khac E, et al. Model for end-stage liver disease score and systemic inflammatory response are major prognostic factors in patients with cirrhosis and acute functional renal failure. *Hepatology.* 2007;46(6):1872-82.
58. Tazi KA, Quioc JJ, Saada V, Bezeaud A, Lebrec D, Moreau R. Upregulation of TNF-alpha production signaling pathways in monocytes from patients with advanced cirrhosis: possible role of Akt and IRAK-M. *J Hepatol.* 2006;45(2):280-9.
59. Cazzaniga M, Dionigi E, Gobbo G, Fioretti A, Monti V, Salerno F. The systemic inflammatory response syndrome in cirrhotic patients: relationship with their in-hospital outcome. *J Hepatol.* 2009;51(3):475-82.

60. Byl B, Roucloux I, Crusiaux A, Dupont E, Devière J. Tumor necrosis factor alpha and interleukin 6 plasma levels in infected cirrhotic patients. *Gastroenterology*. 1993;104(5):1492-7.
61. Navasa M, Follo A, Filella X, Jimenez W, Francitorra A, Planas R, et al. Tumor necrosis factor and interleukin-6 in spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis: relationship with the development of renal impairment and mortality. *Hepatology*. 1998;27(5):1227-32.
62. Chok KS, Fung JY, Chan SC, Cheung TT, Sharr WW, Chan AC, et al. Outcomes of living donor liver transplantation for patients with preoperative type 1 hepatorenal syndrome and acute hepatic decompensation. *Liver Transpl*. 2012;18(7):779-85.
63. Moreau R, Lebrech D. The use of vasoconstrictors in patients with cirrhosis: type 1 HRS and beyond. *Hepatology*. 2006;43(3):385-94.
64. Solanki P, Chawla A, Garg R, Gupta R, Jain M, Sarin SK. Beneficial effects of terlipressin in hepatorenal syndrome: a prospective, randomized placebo-controlled clinical trial. *J Gastroenterol Hepatol*. 2003;18(2):152-6.
65. Cai CX, Maddukuri G, Jaipaul N, Zhang Z. A Treat-to-Target Concept to Guide the Medical Management of Hepatorenal Syndrome. *Dig Dis Sci*. 2015;60(5):1474-81.
66. Cavallin M, Fasolato S, Marengo S, Piano S, Tonon M, Angeli P. The Treatment of Hepatorenal Syndrome. *Dig Dis*. 2015;33(4):548-54.
67. Garcia-Martinez R, Caraceni P, Bernardi M, Gines P, Arroyo V, Jalan R. Albumin: pathophysiologic basis of its role in the treatment of cirrhosis and its complications. *Hepatology*. 2013;58(5):1836-46.
68. Velez JC, Nietert PJ. Therapeutic response to vasoconstrictors in hepatorenal syndrome parallels increase in mean arterial pressure: a pooled analysis of clinical trials. *Am J Kidney Dis*. 2011;58(6):928-38.
69. Ortega R, Gines P, Uriz J, Cardenas A, Calahorra B, De Las Heras D, et al. Terlipressin therapy with and without albumin for patients with hepatorenal syndrome: results of a prospective, nonrandomized study. *Hepatology*. 2002;36(4 Pt 1):941-8.
70. Cavallin M, Piano S, Romano A, Fasolato S, Frigo AC, Benetti G, et al. Terlipressin given by continuous intravenous infusion versus intravenous boluses in the treatment of hepatorenal syndrome: A randomized controlled study. *Hepatology*. 2016;63(3):983-92.
71. Uriz J, Gines P, Cardenas A, Sort P, Jimenez W, Salmeron JM, et al. Terlipressin plus albumin infusion: an effective and safe therapy of hepatorenal syndrome. *J Hepatol*. 2000;33(1):43-8.
72. Alessandria C, Venon WD, Marzano A, Barletti C, Fadda M, Rizzetto M. Renal failure in cirrhotic patients: role of terlipressin in clinical approach to hepatorenal syndrome type 2. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2002;14(12):1363-8.
73. Wong F, Pantea L, Sniderman K. Midodrine, octreotide, albumin, and TIPS in selected patients with cirrhosis and type 1 hepatorenal syndrome. *Hepatology*. 2004;40(1):55-64.
74. Sagi SV, Mittal S, Kasturi KS, Sood GK. Terlipressin therapy for reversal of type 1 hepatorenal syndrome: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010;25(5):880-5.
75. Gluud LL, Christensen K, Christensen E, Krag A. Systematic review of randomized trials on vasoconstrictor drugs for hepatorenal syndrome. *Hepatology*. 2010;51(2):576-84.

76. Duvoux C, Zanditenas D, Hezode C, Chauvat A, Monin JL, Roudot-Thoraval F, et al. Effects of noradrenalin and albumin in patients with type I hepatorenal syndrome: a pilot study. *Hepatology*. 2002;36(2):374-80.
77. Nassar Junior AP, Farias AQ, LA DA, Carrilho FJ, Malbouisson LM. Terlipressin versus norepinephrine in the treatment of hepatorenal syndrome: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(9):e107466.
78. Singh V, Ghosh S, Singh B, Kumar P, Sharma N, Bhalla A, et al. Noradrenaline vs. terlipressin in the treatment of hepatorenal syndrome: a randomized study. *J Hepatol*. 2012;56(6):1293-8.
79. Alessandria C, Ottobrelli A, Debernardi-Venon W, Todros L, Cerenzia MT, Martini S, et al. Noradrenalin vs terlipressin in patients with hepatorenal syndrome: a prospective, randomized, unblinded, pilot study. *J Hepatol*. 2007;47(4):499-505.
80. Dobre M, Demirjian S, Sehgal AR, Navaneethan SD. Terlipressin in hepatorenal syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Int Urol Nephrol*. 2011;43(1):175-84.
81. Cardenas A, Gines P. Management of patients with cirrhosis awaiting liver transplantation. *Gut*. 2011;60(3):412-21.
82. Salerno F, Cazzaniga M, Merli M, Spinzi G, Saibeni S, Salmi A, et al. Diagnosis, treatment and survival of patients with hepatorenal syndrome: a survey on daily medical practice. *J Hepatol*. 2011;55(6):1241-8.
83. Narahara Y, Kanazawa H, Sakamoto C, Maruyama H, Yokosuka O, Mochida S, et al. The efficacy and safety of terlipressin and albumin in patients with type 1 hepatorenal syndrome: a multicenter, open-label, explorative study. *J Gastroenterol*. 2012;47(3):313-20.
84. Nguyen-Tat M, Gotz E, Scholz-Kreisel P, Ahrens J, Sivanathan V, Schattenberg J, et al. [Response to Terlipressin and albumin is associated with improved outcome in patients with cirrhosis and hepatorenal syndrome]. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)*. 2015;140(2):e21-6.
85. Piano S, Morando F, Fasolato S, Cavallin M, Boscato N, Boccagni P, et al. Continuous recurrence of type 1 hepatorenal syndrome and long-term treatment with terlipressin and albumin: a new exception to MELD score in the allocation system to liver transplantation? *J Hepatol*. 2011;55(2):491-6.
86. Rossle M, Gerbes AL. TIPS for the treatment of refractory ascites, hepatorenal syndrome and hepatic hydrothorax: a critical update. *Gut*. 2010;59(7):988-1000.
87. Zhang Z, Maddukuri G, Jaipaul N, Cai CX. Role of renal replacement therapy in patients with type 1 hepatorenal syndrome receiving combination treatment of vasoconstrictor plus albumin. *J Crit Care*. 2015;30(5):969-74.
88. Restuccia T, Ortega R, Guevara M, Ginès P, Alessandria C, Ozdogan O, et al. Effects of treatment of hepatorenal syndrome before transplantation on posttransplantation outcome. A case-control study. *Journal of Hepatology*. 2004;40(1):140-6.
89. Salerno F, Gerbes A, Gines P, Wong F, Arroyo V. Diagnosis, prevention and treatment of hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Postgraduate Medical Journal*. 2008;84(998):662-70.
90. Wong F, Leung W, Al Beshir M, Marquez M, Renner EL. Outcomes of patients with cirrhosis and hepatorenal syndrome type 1 treated with liver transplantation. *Liver Transpl*. 2015;21(3):300-7.
91. Park I, Moon E, Hwang JA, Yu S, Kim BW, Wang HJ, et al. Does hepatorenal syndrome affect the result of liver transplantation? Clinical observations. *Transplant Proc*. 2010;42(7):2563-6.
92. Rodriguez E, Henrique Pereira G, Sola E, Elia C, Barreto R, Pose E, et al. Treatment of type 2 hepatorenal syndrome in patients awaiting transplantation:

- Effects on kidney function and transplantation outcomes. *Liver Transpl.* 2015;21(11):1347-54.
93. Nguyen-Tat M, Jager J, Rey JW, Nagel M, Labenz C, Worns MA, et al. Terlipressin and albumin combination treatment in patients with hepatorenal syndrome type 2. *United European gastroenterology journal.* 2019;7(4):529-37.
 94. Ghosh S, Choudhary NS, Sharma AK, Singh B, Kumar P, Agarwal R, et al. Noradrenaline vs terlipressin in the treatment of type 2 hepatorenal syndrome: a randomized pilot study. *Liver Int.* 2013;33(8):1187-93.
 95. Guicciardi ME, Gores GJ. Apoptosis: a mechanism of acute and chronic liver injury. *Gut.* 2005;54(7):1024-33.
 96. Guicciardi ME, Gores GJ. Apoptosis as a mechanism for liver disease progression. *Semin Liver Dis.* 2010;30(4):402-10.
 97. Cohen GM. Caspases: the executioners of apoptosis. *The Biochemical journal.* 1997;326 (Pt 1):1-16.
 98. Ku NO, Liao J, Omary MB. Apoptosis generates stable fragments of human type I keratins. *J Biol Chem.* 1997;272(52):33197-203.
 99. Enari M, Sakahira H, Yokoyama H, Okawa K, Iwamatsu A, Nagata S. A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. *Nature.* 1998;391(6662):43-50.
 100. Bantel H, Ruck P, Gregor M, Schulze-Osthoff K. Detection of elevated caspase activation and early apoptosis in liver diseases. *Eur J Cell Biol.* 2001;80(3):230-9.
 101. Luo X, Budihardjo I, Zou H, Slaughter C, Wang X. Bid, a Bcl2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors. *Cell.* 1998;94(4):481-90.
 102. Faubion WA, Gores GJ. Death receptors in liver biology and pathobiology. *Hepatology.* 1999;29(1):1-4.
 103. Akazawa Y, Gores GJ. Death receptor-mediated liver injury. *Semin Liver Dis.* 2007;27(4):327-38.
 104. Oberst A, Pop C, Tremblay AG, Blais V, Denault JB, Salvesen GS, et al. Inducible dimerization and inducible cleavage reveal a requirement for both processes in caspase-8 activation. *J Biol Chem.* 2010;285(22):16632-42.
 105. Yilmaz Y. Systematic review: caspase-cleaved fragments of cytokeratin 18 - the promises and challenges of a biomarker for chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009;30(11-12):1103-9.
 106. Linder S, Havelka AM, Ueno T, Shoshan MC. Determining tumor apoptosis and necrosis in patient serum using cytokeratin 18 as a biomarker. *Cancer Lett.* 2004;214(1):1-9.
 107. Barak V, Goike H, Panaretakis KW, Einarsson R. Clinical utility of cytokeratins as tumor markers. *Clin Biochem.* 2004;37(7):529-40.
 108. Yilmaz Y, Dolar E, Ulukaya E, Akgoz S, Keskin M, Kiyici M, et al. Soluble forms of extracellular cytokeratin 18 may differentiate simple steatosis from nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol.* 2007;13(6):837-44.
 109. Schutte B, Henfling M, Kolgen W, Bouman M, Meex S, Leers MP, et al. Keratin 8/18 breakdown and reorganization during apoptosis. *Exp Cell Res.* 2004;297(1):11-26.
 110. PEVIVA. M30 Apoptosense ELISA Gebrauchsanweisung.
 111. Gonzalez-Quintela A, Mallo N, Mella C, Campos J, Perez LF, Lopez-Rodriguez R, et al. Serum levels of cytokeratin-18 (tissue polypeptide-specific antigen) in liver diseases. *Liver Int.* 2006;26(10):1217-24.
 112. Gonzalez-Quintela A, Mella C, Perez LF, Abdulkader I, Caparrini AM, Lojo S. Increased serum tissue polypeptide specific antigen (TPS) in alcoholics: a possible

- marker of alcoholic hepatitis. *Alcoholism, clinical and experimental research*. 2000;24(8):1222-6.
113. Gonzalez-Quintela A, Mella C, Abdulkader I, Perez LF, Campos J, Otero E, et al. Serum Levels of Tissue Polypeptide Specific Antigen Are Correlated With Hepatocyte Cytokeratin Expression in Alcoholic Liver Disease. *Alcoholism: Clinical & Experimental Research*. 2004;28(9):1413-8.
114. Cetin T, Oguz A, Algan P, Yildirim IS. The use of tissue polypeptide specific antigen as a marker in liver diseases. *The Turkish journal of gastroenterology : the official journal of Turkish Society of Gastroenterology*. 2003;14(3):177-80.
115. Tarantino G, Conca P, Coppola A, Vecchione R, Di Minno G. Serum concentrations of the tissue polypeptide specific antigen in patients suffering from non-alcoholic steatohepatitis. *European journal of clinical investigation*. 2007;37(1):48-53.
116. Waidmann O, Brunner F, Herrmann E, Zeuzem S, Piiper A, Kronenberger B. Cytokeratin 18 based cell death markers indicate severity of liver disease and prognosis of cirrhotic patients. *Liver Int*. 2016.
117. Sekiguchi T, Umemura T, Fujimori N, Shibata S, Ichikawa Y, Kimura T, et al. Serum cell death biomarkers for prediction of liver fibrosis and poor prognosis in primary biliary cirrhosis. *PLoS One*. 2015;10(6):e0131658.
118. Craig DG, Lee P, Pryde EA, Masterton GS, Hayes PC, Simpson KJ. Circulating apoptotic and necrotic cell death markers in patients with acute liver injury. *Liver Int*. 2011;31(8):1127-36.
119. Gonzalez-Quintela A, Garcia J, Campos J, Perez LF, Alende MR, Otero E, et al. Serum cytokeratins in alcoholic liver disease: contrasting levels of cytokeratin-18 and cytokeratin-19. *Alcohol*. 2006;38(1):45-9.
120. Waidmann O, Koberle V, Bettinger D, Trojan J, Zeuzem S, Schultheiss M, et al. Diagnostic and prognostic significance of cell death and macrophage activation markers in patients with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2013;59(4):769-79.
121. Kronenberger B, Wagner M, Herrmann E, Mihm U, Piiper A, Sarrazin C, et al. Apoptotic cytokeratin 18 neoepitopes in serum of patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*. 2005;12(3):307-14.
122. Eren F, Yilmaz Y, Kose S, Ozdemir FT, Yonal O, Kurt R, et al. Caspase-cleaved fragments of cytokeratin 18 in patients with chronic hepatitis B. *Clin Chim Acta*. 2010;411(23-24):2029-32.
123. PEVIVA. M65 ELISA Gebrauchsanweisung.
124. Cervoni JP, Thevenot T, Weil D, Muel E, Barbot O, Sheppard F, et al. C-reactive protein predicts short-term mortality in patients with cirrhosis. *J Hepatol*. 2012;56(6):1299-304.
125. Papp M, Vitalis Z, Altorjay I, Tornai I, Udvardy M, Harsfalvi J, et al. Acute phase proteins in the diagnosis and prediction of cirrhosis associated bacterial infections. *Liver Int*. 2012;32(4):603-11.
126. Farnik H, Lange CM, Hofmann WP, Berger A, Allwinn R, Welker MW, et al. Nucleos(t)ide analogue treatment reduces apoptotic activity in patients with chronic hepatitis B. *J Clin Virol*. 2011;52(3):204-9.
127. Weinreich T, Böhler J, Kribben A, Kuhlmann M, Hollenbeck M, Schettler V, et al. Dialysestandard. Deutschen Gesellschaft für Nephrologie in Zusammenarbeit mit dem Verband Deutscher Nierenzentren eV sowie der Gesellschaft für Pädiatrische Nephrologie (GPN). 23.03.2016.
128. Nazar A, Pereira GH, Guevara M, Martin-Llahi M, Pepin MN, Marinelli M, et al. Predictors of response to therapy with terlipressin and albumin in patients with cirrhosis and type 1 hepatorenal syndrome. *Hepatology*. 2010;51(1):219-26.

129. Boyer TD, Sanyal AJ, Garcia-Tsao G, Blei A, Carl D, Bexon AS, et al. Predictors of response to terlipressin plus albumin in hepatorenal syndrome (HRS) type 1: relationship of serum creatinine to hemodynamics. *J Hepatol.* 2011;55(2):315-21.
130. Bundesärztekammer. Richtlinie gemäß § 16 Abs. 1 S. 1 Nrn. 2 u. 5 TPG für die Wartelistenführung und Organvermittlung zur Lebertransplantation, gültig ab 16.06.2017. *Deutsches Ärzteblatt.* 2017.