Aus der Abteilung Gastroenterologie und Hepatologie
der Kinderklinik, des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf,

Direktor: Prof. Dr. med. K. Ullrich

Bedeutung von Zytokinen im Aszites und Serum nach Lebertransplantation bei Kindern

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg vorgelegt von

Britta Baade

aus Hamburg

Hamburg 2003

Angenommen vom Fachbereich der Medizin
der Universität Hamburg am:

Veröffentlicht mit der Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende:

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter:

Prüfungsausschuss: 3. Gutachter:

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 1

1.1 Historische Entwicklung der Lebertransplantation bei Kindern 1

1.1.1 Indikation und Kontraindikation zu einer Lebertransplantation 1

1.1.2 Zeitpunkt der Lebertransplantation 4

1.1.3 Komplikationen nach Lebertransplantation 5

1.2 Pathogenese des Aszites bei Lebererkrankung 7

1.3 Bedeutung von Zytokinen 7

1.3.1 Wirkmechanismen einzelner Zytokine bei der Lebertransplantation 10

1.4 Problemstellung 12

2 Patienten und Methoden 14

2.1. Patienten 14

2.2 Material 15

2.2.1 Materialgewinnung 19

2.2.2 Durchführung des Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) 19

2.3 Zytokine 26

2.4 Medikation nach Lebertransplantation 34

2.5 Diagnostik und Therapie einer Abstoßungreaktion 35

2.6 Diagnostik und Therapie von postoperativen Infektionen 35

2.7 Statistik 36

3 Ergebnisse 37

3.1 Korrelation der Zytokinkonzentrationen von Aszites und Serum 37

3.2 Zytokinkonzentration im Serum und Aszites bei akuter Abstoßung 38

3.3 Zytokinkonzentrationen im Serum und Aszites bei Infektionen 41

3.4 Zytokinkonzentrationen im Serum und Aszites bei weiteren Komplikationen 43

3.5 Zytokinkonzentration in den ersten Tagen nach Lebertransplantation 46

3.5.1 Löslicher Tumor Nekrosefaktor Rezeptor II 51

3.5.2 Interleukin-2 löslicher Rezeptor alpha 53

3.5.3 Interleukin-1 Rezeptor Antagonist 55

3.5.4 Hepatozyten Wachstumsfaktor 57

3.5.5 Interleukin-15 59
3.5.6 Interleukin-6 61
3.5.7 Interleukin-10 63

4 Diskussion 65
4.1 Nachweis von Zytokinen im Aszites 65
4.2 Zytokinverläufe während der Komplikationen nach Lebertransplantation 67
4.2.1 Bedeutung von Zytokinen während der akuten Abstoßung 68
4.2.2 Bedeutung von Zytokinen während der Infektionen 72
4.2.3 Bedeutung von Zytokinen während der initialen Nicht-Funtkion- oder des Multiorganversagens 75
4.3 Verlauf einzelner Zytokine in der frühen postoperativen Phase 79

5 Zusammenfassung 88

6 Anhang des Ergebnisteils 89

7 Literaturverzeichnis 97

8 Danksagung 110

Abkürzungen

ALAT	Alanin Aminotransferase
ASAT	Aspartat Aminotranferase
APP	Akute-Phase-Proteine
AT III	Antithrombin III
CMV	Zytomegalie-Virus
CRP	C-reaktives Protein
CsA	Cyclosporin A
EBV	Epstein-Barr-Virus
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FFP	Fresh Frozen Plasma (frischgefrorenes Humanplasma)
γGT	gamma Glutamattranspeptidase
Hb	Hämoglobin
INF	initiale Nicht-Funktion
IL-1ra	Interleukin-1 Rezeptorantagonist
IL-1	Interleukin-1
IL-2	Interleukin-2
IL-15	Interleukin-15
IL-10	Interleukin-10
IL-2 sRα	Interleukin-2 soluble Rezeptor alpha
IL-6	Interleukin-6
LRLTX	living related liver transplantation
LTX	orthotope Lebertransplantation
MEGX	Monoethylglycinxylidid
MOV	Multiorganversagen
n. s.	nicht signifikant
PFIC	progressive intrahepatische familiäre Cholestase
SLTX	split liver transplantation
sTNF R II	Löslicher Tumor necrosis factor-Rezeptor II
TNF R-II	TNF-Rezeptor II
TNFs	Tumor Nekrose Faktoren

UNOS	United Network for Organ Sharing
UKE	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
UpM	Umdrehungen pro Minute
ZVD	zentraler Venendruck

1 Einleitung

1.1 Historische Entwicklung der Lebertransplantation bei Kindern

Die Lebertransplantation (LTX) ist seit ca. elf Jahren eine Therapieform, die im Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE) zur Behandlung der akuten und chronischen Lebererkrankung im Kindesalter angewendet wird. Nach der Ersten erfolgreichen LTX im Jahre 1967 (Starzl et al. 1968) sind neue chirurgische Techniken entwickelt worden, um das Angebot für Kindern zu vergrößern. Pichlmayr und Bismuth führten 1988 nahezu gleichzeitig das Konzept der ex situ Split-Lebertransplantation ein, um das Organangebot zu verdoppeln (Broelsch et al. 1991). Kurz darauf wurde von Broelsch 1989 die Lebendspende des linken Lebersegmentes in Chicago entwickelt und 1991 in Hamburg etabliert. Daraus wurde von Rogiers und Malago 1994 die in situ splitting Lebertransplantation hervorgebracht. Damit konnte eine Kadaver Leberspende für einen Erwachsenen und ein Kind verwendet werden (Rogiers et al. 1995). Mit der in-situ Splitting LTX Methode konnten vergleichbare Ergebnisse erzielt werden wie mit der Transplantation eines ganzen Organs, da sich die kalte Ischämiezeit verkürzt hatte (Rogiers et al. 1996). Dieses ist insbesondere im Hinblick auf das rechte Lebersegmentes von Bedeutung gewesen (Malago et al. 1998). Durch die verbesserten chirurgischen Techniken wurde das Angebot für Kinder verbessert, so daß die Mortalität auf der Warteliste in den letzten Jahren auf fast Null gesunken ist (Burdelski et al. 1999).

1.1.1 Indikation und Kontraindikation zur einer Lebertransplantation

Beim akuten oder chronischen Leberversagen stellt die LTX die einzige kurative Therapieform dar. Die Indikation zur LTX wird individuell unter der Berücksichtigung verschiedener Faktoren entschieden. Kriterien können dabei das Auftreten einer Leberzirrhose oder das Nicht-Ansprechen auf eine konservative

Behandlung sein. Die LTX kann eine Therapieform als präventive Maßnahme bei Patienten mit hohen Risiko für Komplikationen sowie für Patienten mit hepatozellulären Carcinom und bei chronischer endständiger Nierenerkrankung sein (Burdelski u. Rogiers 1999).

Die LTX wird in der Regel blutgruppenkompatibel durchgeführt. Gelegentlich kann es auch medizinisch notwendig sein, dass eine Leber von einem Spender mit der Blutgruppe 0 an einen Empfänger mit der Blutgruppe A oder B gegeben wird. Im Gegensatz zu der Nierentransplantation muss bei der LTX keine HLA-Kompatibilität bestehen, da es bei der LTX sehr selten zu einer hyperakuten Abstoßung kommt und wenn unabhängig vom Haupthistokompatibilitätskomplex auftritt (Kelly und Mayer 2001). Sofern möglich wird einem Cytomegalie-Virus (CMV) negativen Empfänger das Organ eines CMV negativen Spenders transplantiert, um eine spätere CMV-Infektion zu vermeiden (Burdelski et al. 1999). Das Spektrum der Erkrankungen die zu einer Lebertransplantation bei Kindern am UKE führten sind in **Abbildung 1** dargestellt.

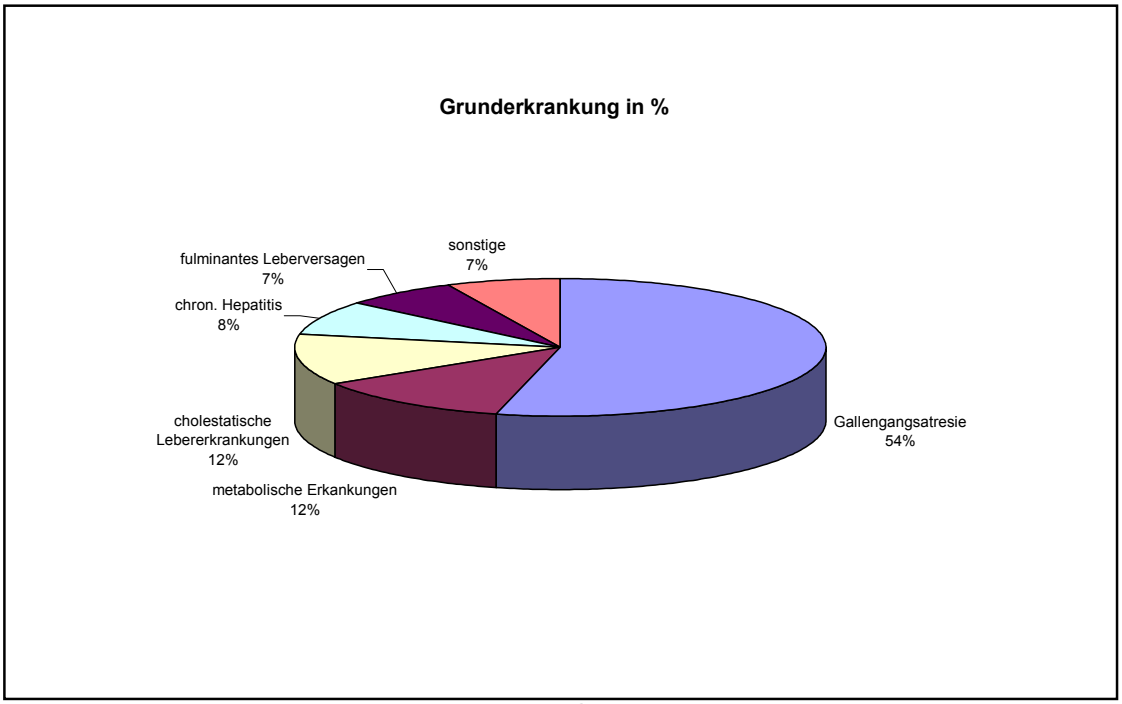


Abbildung 1: Prozentuale Verteilung der Grundkrankungen bei Kindern (n=162) die im Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf von 1991 bis 1998 Lebertransplantiert worden sind (Ganschow et al. 2000)

Die Gallengangsatresie ist die häufigste Indikation für eine LTX bei Kindern. Sie betrifft etwa 1:8 000 bis 1:12 000 Lebendgeburten. Initial wird die Gallengangsatresie möglichst mit einer hepatischen Portoenterotomie nach Kasai operativ behandelt. Dennoch entwickeln zwei Drittel der Kinder relativ rasch eine Cholestase mit portaler Hypertension und zunehmender Leberzirrhose. Das Überleben für längere Zeit der meisten Kindern mit Gallengangsatresie ist dann nur noch durch eine LTX möglich. Unbehandelt würde die Gallengangsatresie zum Tode durch Leberinsuffizienz führen, wobei die durchschnittliche Überlebenszeit zwischen 12 und 19 Monaten liegt (Goss et al. 1996).

Die zweithäufigste Ursache bei Säuglingen für eine LTX ist die progressive intrahepatische familiäre Cholestase (PFIC) (Burdelski et al. 1995). Diese Erkrankung gehört zu den familiären Cholestase-Erkrankungen. Davon abzugrenzen ist das Alagille-Syndrom. Hierbei handelt es sich um eine autosomal-dominant vererbte Erkrankung, die auf ein defektes Differenzierungsprotein (JAG1) zurückzuführen ist. Dabei können die betroffenen Patienten trotz maximaler supportiver Maßnahmen eine Leberzirrhose mit portaler Hypertension,

Mangelernährung und Wachstumsretardierung entwickeln (Kelly und Mayer 2001). Ein weitere Indikation für eine LTX können metabolische Lebererkrankungen sein, worunter Erkrankungen wie α1-Antitrypsinmangel, Tyrosinämie und M. Wilson zählen. Zu den seltenen Indikationen gehört unter anderen die Autoimmunhepatitis. Kinder mit dieser Erkrankung werden in der frühen Phase zunächst immunsuppressiv mit Prednison oder Azathioprin behandelt. Tritt trotz einer immunsuppressiven Therapie ein fulminantes Leberversagen auf oder ist die Leberzirrhose bereits fortgeschritten, muß lebertransplantiert werden (Kelly und Mayer 2001). Eine seltene Indikation für die LTX bei Kindern ist das fulminante Leberversagen verschiedener Genese, dass verursacht sein kann durch Virusinfektionen bei unbekanntem Erreger, Medikamente (z. B. Paracetamol) oder Toxine.

Im Laufe der Zeit erweiterten sich die Indikationen für die kindliche LTX, da zur gleichen Zeit sich die absoluten Kontraindikationen reduzierten (Burdelski et al. 1999). So sind zur Zeit nur noch aktive systemische Infektionen, systemische Multiorganerkrankungen, die durch eine Transplantation nicht geheilt werden können (z. B. Mitochondriopathien oder andere Stoffwechselstörung) (Burdelski et al. 1999), und maligne Lebertumore mit extrahepatischer Ausbreitung (Kelly und Mayer 2001) absolute Kontraindikationen. Besonderheiten wie vaskuläre Abnormitäten, hepatorenales Syndrom oder hepatopulmonales Syndrom müssen im Einzelfall bezüglich ihrer Konsequenzen für eine LTX diskutiert werden.

1.1.2 Zeitpunkt der Lebertransplantation

Kinder mit chronischen Lebererkrankungen sollten transplantiert werden, bevor die Komplikationen der Erkrankung die Lebensqualität, das Wachstum und die Entwicklung einschränken. Möglichst umgehend sollte transplantiert werden, wenn schwerwiegende Komplikationen wie chronische Enzephalopathie, therapieresistenter Pruritus oder durch portale Hypertension bedingte Varizenblutungen trotz optimaler Behandlung auftreten. Als Richtlinien für die Indikation zur LTX werden laborchemische Parameter im Serum wie Bilirubin über 150 µmol/l, Thromboplastinzeit (Quick-Wert) unter 15 %, und ein Abfall des

Albumins unter 35 g/l genannt (Kelly und Mayer 2001). Der Monoethylglycinxylidid-(MEGX-) Test dient als richtungsweisender Parameter zur Einschätzung der Leberfunktion (Oellerich et al. 1993). Dabei wird eine definierte Menge Lidocain intravenös appliziert und in der Leber zu Monoethylglycinxylidid metabolisiert. Die Bestimmung des Metaboliten erlaubt Rückschlüsse auf die Biotransformationsleistung der Leber.
Weiterhin ist eine LTX beim akuten Leberversagen mit Auftreten einer Enzephalopathie und zusätzliches Absinken der Gerinnungsfaktoren unter 20% dringend indiziert (Otte 1999).

1.1.3 Komplikationen nach Lebertransplantation

Die Komplikationen, die das Ergebnis einer LTX bestimmen, treten meistens in der frühen Phase während des Intensivaufenthaltes auf (Ganschow et al. 2000). Denn mehr als 70% aller Todesfälle treten in der ersten Woche nach LTX auf (Cuervas et al. 1986). Die Mortalität und Morbidität während dieser Phase hängt von Komplikationen wie initiale Nicht-Funktion, Sepsis, akuter zellulärer Abstoßung, Multiorganversagen und chirurgischen Problemen ab. Die häufigste Ursache für die frühe Mortalität nach LTX sind Infektionen und Sepsis mit Multiorganversagen (Függer et al. 1992).

Während des Aufenthaltes auf der Intensivstation muss in über der 40% der Fälle mit einer Infektion gerechnet werden (Ganschow et al. 2000). In der frühen Phase nach LTX spielen vor allen bakterielle und fungale Infektionen eine Rolle. Die viralen Infektionen wie z. B. CMV oder EBV treten in der Regel nicht vor der vierten Woche nach LTX auf (Kelly und Mayer 2001). Am häufigsten von den Infektionen sind bakterielle (47%), dann virale (41%) und am seltensten sind fungale Infektionen (12%). Risikofaktoren können Antibiotikatherapie vor der LTX, lange Operationszeiten oder die Anzahl einer Steroid-Bolus Therapie bei akuter Abstoßung sein. Alle Formen von Infektionen können die Symptome einer akuten oder chronischen Abstoßung verschleiern (Straehler et al. 1997).

Die akute zelluläre Abstoßung ist eine häufige Komplikation nach LTX bei Kindern, und tritt bei über 50% der Patienten auf (van der Werf et al. 1998). Ganschow et al. (2000) fanden in 27% der Fälle, dass die akute Abstoßung in der frühen postoperativen Phase während des Aufenthaltes auf der Intensivstation statt findet. Die Abstoßungsreaktion wird von zytotoxischen CD8+T-Zellen und TH1-Zellen vermittelt. T-Zell-Rezeptoren nehmen fremde Histokompatibilitäts-Antigene auf der Oberfläche des Transplantates wahr, wodurch T-Zellen aktiviert werden und in das Transplantat einwandern. Bei der akuten Abstoßung kommt es zu einer Infiltration von Monozyten und Makrophagen in das Transplantat. Die lokale Zytokinsekretion und Interaktionen zwischen verschiedenen T-Zellpopulationen mit Reifung von zytotoxischen T-Zellen führen zu einer Zerstörung des transplantierten Organs.

Die initiale Nicht-Funktion (INF) tritt bei 3-8 % nach LTX auf (Strasberg et al. 1994). Es wird davon ausgegangen das verschieden Faktoren wie lange Ischämiezeit (Strasberg et al. 1994), ein langer Aufenthalt des Spenders auf der Intensivstation (Ploeg et al. 1993) und ein hohes Alter des Spenders eine Rolle bei der Entwicklung der INF spielen (Oldhafer et al. 1999). Die Entwicklung einer INF steigt signifikant wenn die warme Ischämiezeit länger als 18 Stunden und die kalte Ischämiezeit länger als 60 Minuten beträgt (Ploeg et al. 1993). Auch scheint eine gestörte Mikrozirkulation der Leber bei der Entstehung der INF eine Schlüsselrolle einzunehmen (Oldhafer et al. 1999). Aber oft sind die Gründe im individuellen Fall nicht bekannt. Die Therapie der Wahl ist eine schnell möglichst erneute Transplantation.

Die Pathophysiologie des Multiorganversagens nach LTX beinhaltet Verletzungen des Endothels und damit den Verlust von vaskulären Reaktionen, lokale Akkumulation von vasokonstriktiven Substanzen, kapilliäre Mikroembolien und intestinale Ödeme (Schuster 1996). Diese Prozesse werde von Zytokinen, Thromboxanen, Stickstoff und Leukotrienen vermittelt (Goris et al. 1985).

Chirurgische Komplikationen treten postoperativ in den ersten Tagen auf der Intensivstation in über 30% der Fälle auf (Ganschow et al. 2000). Dazu gehören u. a. Thrombosen von Gefäßen, Lecks im Bereich der Gallengänge,

Dünndarmperforation und Blutungen. Die Inzidenz der chirurgischen Komplikationen ist von 1991 bis 1998 signifikant gesunken (Ganschow et al. 2000).

1.2 Pathogenese des Aszites bei Lebererkrankung

Die Entstehung eines Aszites bei Lebererkrankungen ist multifaktoriell. Durch entzündliche Umbauvorgänge in der Leber wird der venöse Rückfluß in die Leber verhindert. Dadurch kommt es zu einer portalen Hypertension mit Hypervolämie der Splanchnikusgefäße, und zum Anstieg des hydrostatischen Druckes. Außerdem entsteht durch eine verminderte Syntheseleistung der Leber eine Hypalbuminämie, was einen erniedrigten osmotischen Druck zur Folge hat. Die portale Hypertension und Hypalbuminämie führen zu einem Absinken des kolloidosmotischen Druckes und einen verminderten Lymphabfluß in den Sinusoiden sowie zu einer Sequestration der Lymphe in den Bauchraum. Zusätzlich besteht eine gesteigerte Natriumrückresorption im proximalen Tubulus der Niere, wodurch es zu einer Natrium- und Wasserretention kommt. Diese wird durch einen sekundären Hyperaldosteronismus noch weiter gefördert.

Die Patienten, die transplantiert werden müssen, entwickeln in der Regel schon kurz vor der Operation einen Aszites. Man spricht von einer dekompensierten Leberzirrhose. Sekundärer Hyperaldosteronismus, durch die Operation verursachte Lymphleckagen und eine „small for size“ Situation können zu einem postoperativen Aszites führen.

1.3 Bedeutung von Zytokinen

Zytokine sind kleine, lösliche Proteine mit einem Molekulargewicht zwischen 10 000 und 30 000 Dalton, die von einer Zelle gebildet werden und das Verhalten oder die Eigenschaften dieser oder anderen Zellen verändern (Janeway und Travers 1997). Sie werden von verschiedenen Zellen als eine Antwort auf einen

Stimulus wie eine Verletzung, bakterielle Produkte, Viren oder Antigene produziert. Aufgrund ihrer Struktur werden Zytokine in folgende Familien eingeteilt: Hämatopoetine, Interferone, Chemokine und Mitglieder der TNF-Familie (Janeway und Travers 1997). T-Zellen produzieren im wesentlichen Zytokine, die als Interleukin (IL) bezeichnet werden und mit einer Zahl beziffert werden (z. B. IL-1, IL-2) (Janeway und Travers 1997).

Zytokine vermitteln die Antwort des menschlichen Körpers auf Infektionen und Entzündungen. Dabei reagieren Zytokine mit an der Oberfläche befindlichen Rezeptoren, die aufgrund genetischer, struktureller und funktioneller Ähnlichkeiten in entsprechende Familien eingeteilt werden (Janeway und Travers 1997). Es besteht ein Netzwerk in dem sie synergistische, additive und antagonistische Effekte haben (Gerlach et al. 1996). Die Leber ist eines der wichtigsten Zielorgane von vielen Zytokinen (Gerlach et al. 1996). Außerdem ist die Leber wichtig für die Synthese von Zytokinen und ist das Hauptorgan für die Clearance einiger Zytokine wie z. B. TNF-α (Zeni et al. 1993).

Nach Transplantationen kommt es zu verschieden Reaktionen des Immunsystems. Daran können u. a. Zytokine beteiligt sein, die von T-Zellen und Makrophagen produziert werden, denn diese Zellen tragen zur Immunabwehr bei (Janeway und Travers 1997). Einige dieser Zytokine, wie z. B. IL-2, haben immunregulatorische Funktionen, indem sie zur Aktivierung, zum Wachstum und zur Vermittlung von differenzierten Signalen an Zellen des spezifischen und nicht-spezifischen Immunsystems beitragen, die dann u. a. auf ein allogenes Transplantat wirken (Martinez et al. 1992). Dabei werden auch Makrophagen von Zytokinen aktiviert. Diese spielen eine zentrale Rolle beim Initiieren und Regulieren des spezifischen und nicht-spezifischen Immunsystem, indem sie als antigenpräsentierende Zellen für T-Zellen dienen, oder entzündliche Produkte wie Zytokine (IL-1, IL-6 und TNF-α) oder Eicosanoide produzieren (Pruimboom et al. 1994). CD4+ T-Zellen können aufgrund der von ihnen produzierten Zytokine und deren Wirkung in zwei Gruppen unterteilt werden: In Th1-Zellen und Th2-Zellen. Th1-Zellen produzieren u. a. IL-2, INF-γ und TNF, die für die Regulierung der zellulären Immunantwort von Bedeutung sind, um virale und intrazelluläre pathogene Infekte zu bekämpfen. Außerdem vermitteln Th1-Zytokine

immunologische Reaktionen bei der akuten zellulären Abstoßung (Lowry et al. 1993). Th2-Zellen sezernieren hauptsächlich IL-10, IL-4 und IL-5 und sind primär für die Regulierung der humoralen Immunantwort zuständig (Shirwan et al. 1999).

Die häufigste Komplikation nach Transplantationen sind Infektionen (Drews et al 1996). Während der Infektion kommt es über verschiedene Wege zu einer Freisetzung von Zytokinen, die wiederum über mehrere Mechanismen zur Immunabwehr beitragen. So können z. B. bei bakteriellen Infektionen gramnegativen Bakterien von Phagozyten aufgenommen werden, und von diesen zersetzt werden. Bei diesem Vorgang entstehen Lipopolysaccharide, die Phagozyten zur Sekretion von Zytokinen anregen. Das kann zu einer Leukozytose und einer Entzündungsreaktion führen (Janeway und Travers 1997). Auch bestimmen Zytokine die Differenzierung der CD4+T-Zellen zu Th1-Zellen und Th2-Zellen. Dieser Schritt ist entscheidend dafür ob Makrophagen oder eine Antigenproduktion dominiert. Makrophagen wiederum produzieren selbst Zytokine, die zur Immunabwehr beitragen. Diese Zytokine aktivieren wieder andere Zytokine zur Unterstützung. Z. B. können IL-1, TNF-α und IL-6 über den Hypothalamus die Körpertemperatur erhöhen, oder über Fett und Muskulatur durch Mobilisierung von Proteinen und Energie zur Immunabwehr beitragen. In der Leber kann es durch Zytokine zu einer vermehrten Produktion von Akute-Phase-Proteine kommen, und dadurch zur Aktivierung des Komplementsystems (Opsonisierung) (Janeway und Travers 1997). Im Knochenmark und am Endothel führen Zytokine zu einer Mobilisierung von Neutrophilen und somit zu einer vermehrten Phagozytose. Auf B- und T-Lymphozyten wirken Zytokine aktivierend, wodurch es zu einer verminderten viralen und bakteriellen Replikation kommt mit einer schnelleren Antigenverarbeitung und verstärkten spezifischen Immunreaktion (Janeway und Travers 1997).

Am Transplantat können Zytokine zu einer Induktion von Adhäsionsmolekülen und einer nicht spezifischen Rekrutierung von Zellen zum Transplantat führen, indem Endothelzellen und zirkulierende zelluläre Blutbestandteile kommunizieren (Gerlach et al. 1996). Daran sind Entzündungszytokine wie TNF-α, IL-1β oder IL-6 beteiligt (Martinez et al. 1992).

Während der akuten Abstoßung kommt es zu einer Infiltration von Lymphozyten, Makrophagen und Monozyten in das Transplantat. Makrophagen und T-Zellen produzieren bei der akuten Abstoßung Zytokine, die als ein Mediator zwischen dem spezifischen und nicht-spezifischen Immunsystems des Empfängers agieren. In dieser Phase spielen wahrscheinlich IL-2 und TNF-α eine führende Rolle. Denn diese beiden Zytokine werden von T-Zellen sezerniert und sind für die Leukozyteninfiltration, sowie für die Entzündungsreaktion im Gewebe verantwortlich.

1.3.1 Wirkmechanismen verschiedener Zytokine bei der Lebertransplantation

Aufgrund ihrer Bedeutung und Funktion entschieden wir uns zur Untersuchung von folgenden Zytokine nach LTX:

Löslicher Tumor Nekrose Faktor Rezeptor II (sTNF RII) ist ein Zytokin, dass bei entzündlichen und infektiösen Erkrankungen ansteigt. Der sTNF RII wird als Antwort auf entzündliche Stimuli von der Zelloberfläche abgestoßen (Marinos et al. 1995). Durch diese Reaktion kommt es zu einem signifikanten Anstieg von sTNF RII im Serum. Aufgrund dieser Funktionen von sTNF RII könnte ein Anstieg nach LTX eine frühes Zeichen von entzündlichen Veränderungen sein.

Interleukin-2 löslicher Rezeptor alpha (IL-2 sRα) kann nach einer LTX wegweisend für die Aktivität des Immunsystems sein. Denn IL-2 sRα wird nur von aktivierten T- und B-Zellen exprimiert. Eine erhöhte Konzentration von IL-2 sRα korreliert deshalb mit der Höhe der Aktivität von T- und B-Zellen.

Interleukin-1 Rezeptorantagonist (IL-1ra), ist ein natürlich vorkommender Inhibitor von Interleukin-1 (IL-1) ohne eigene intrinsische Aktivität. Bei IL-1ra ist sowohl in vitro als auch in vivo eine antiinflammatorische Wirkung beobachtet worden, indem es die entzündlichen Eigenschaften von IL-1 neutralisiert ohne selbst eine Signaltransduktion zu induzieren. Diese Funktion kann nach der LTX von Bedeutung sein, denn IL-1 ist ein Vermittler der akuten Abstoßung nach LTX, da

es eine zentrale Rolle bei der T-Zell Aktivierung spielt (Antin et al. 1994). Dabei scheint IL-1ra, welches u. a. von Kupffer-Zellen produziert wird, physiologisch auf Verletzungen des Gewebes durch infiltrierende Leukozyten in der frühen Phase der akuten Abstoßung zu reagieren.

Hepatozyten Wachstumsfaktor (HGF), kann nach der LTX von Bedeutung sein, da dieses Zytokin die Proliferation der Hepatozyten stimuliert und damit maßgeblich an der Regeneration von Lebergeweben beteiligt ist. Die Aktivität von HGF steigt proportional zur Abnahme der Leberfunktion, und sinkt schnell auf ein normales Niveau bei einer Regeneration der Leber. Deshalb sind Konzentrationsschwankungen von HGF ein guter Indikator für die Leberregeneration nach LTX (Miki et al. 1996).

Interleukin-15 (IL-15) ist ein Zytokin, dass in seiner biologischen Wirkung und Struktur der von Interleukin-2 (IL-2) ähnlich ist. Deshalb könnte IL-15 genauso wie IL-2 eine wichtige Rolle bei der akuten Abstoßung nach LTX spielen. Es konnte eine IL-15 Produktion im Transplantat nachgewiesen werden und eine damit assoziierte Abstoßung des Transplantates (Baan et al. 1998). IL-15 hat eine stimulierende Wirkungen auf T- und B-Zellen, und könnte über die gleichen Rezeptoren wie bei IL-2 zu einer Aktivierung des Immunsystems und damit zur akuten Abstoßung führen.

Interleukin-6 (IL-6) kann bei der akuten Abstoßung nach Transplantation eine wichtige Rolle spielen. Denn IL-6 ist ein wichtiger Faktor für die T-Zellaktivierung, indem es zur Proliferation von aktivierten T-Zellen führt (Heinrich et al. 1990) und die zytotoxische Antwort induziert (Symington et al. 1992). Diese stimulierende Wirkung sowohl auf die humorale als auch auf die zelluläre Immunantwort spielt bei einer Abstoßung nach Transplantation eine wichtige Rolle (Umeshita et al. 1996). Des weiteren können bei Infektionen bakterielle Lipopolysaccharide in Monozyten eine IL-6 Produktion stimulieren. Als lokale Reaktion auf die IL-6 Produktion kann es zu Aktivierung von Lymphozyten und einer gesteigerten Antikörperproduktion kommen (Janeway und Travers 1997). Deshalb hat IL-6 auch bei Infektionen nach LTX eine wichtige Bedeutung.

Interleukin-10 könnte als ein immunsuppressives und entzüngshemmendes Zytokin nach einer LTX wirken. Denn IL-10 hat eine supprimierende Wirkung auf die Produktion von Prostagladin E2 und verschiedene Zytokine (u. a. TNF-α, IL-1, IL-6). Dadurch hat IL-10 eine starke hemmende Wirkung auf Makrophagen und Monozyten sowie deren Einfluss auf die zellvermittelte Immunantwort. Zusätzlich kann die Expression von MHC-Klasse II auf Makrophagen weniger werden durch IL-10. MHC-Proteine sind wiederum wichtig bei der T-Zell Aktivierung bei der Antigenerkennung.

1.4 Problemstellung

Für das Ergebnis der LTX ist die frühe postoperative Phase wesentlich, da die meisten Komplikationen in diesem Zeitraum auftreten. In dieser Phase ist eine intensivmedizinische Betreuung mit regelmäßigen Kontrollen der laborchemischen Entzündungsparametern, Transaminasen, u. a. notwendig. Ein Anstieg der Leberenzyme, Leukozyten und Bilirubin sowie ein Abfall der Gerinnungsfaktoren kann sowohl bei einer akuten Abstoßung, aber auch bei Infektionen, chirurgischen Komplikationen als auch beim Multiorganversagen vorkommen, so dass diese konventionellen Parameter keinen sicheren Rückschluss auf die Ursache zu lassen. Deshalb müssen zur Differenzierung eine weiterführende Diagnostik mit Ultraschall und Doppler-Ultraschall der Leber zusammen mit einer Leberbiopsie durchgeführt werden. Risiken der Leberbiopsie sind Blutungen, Verletzungen von Gefäßen und Gallengängen. Ohne Histologie kann aber nicht mit der erforderlichen Sicherheit zwischen Infektion, Abstoßung und toxischem Leberschaden unterschieden werden.

Aszites bildet sich nach fast jeder LTX und wird über Drainagen im Abdomen abgelassen. Bis jetzt ist im Rahmen der postoperativen Überwachung zur Routinekontrolle und Diagnostik bei Komplikationen nach LTX der Aszites nicht genutzt worden. Der Aszites wurde insbesondere bei Kindern nach LTX auch noch nicht auf Zytokine untersucht. Des weiteren ist auch der Verlauf von Zytokinen im Serum bei Kindern nach LTX noch nicht gemessen worden.

In der vorliegend Arbeit wird die Messung von Zytokinen im Aszites und Serum unter folgenden Gesichtspunkten untersucht:

1. Ist es möglich, die Zytokine sTNF RII, IL-1ra, IL-2 sRα, HGF, IL-10, IL-6, IL-15 im Aszites nach zuweisen?
2. Sofern Zytokine im Aszites nachweisbar sind sollte überprüft werden, ob es eine Korrelation zu der Zytokinkonzentration im Serum gibt?
3. Haben Zytokine im Serum und Aszites während einer Komplikation nach LTX eine differentialdiagnostische Bedeutung ?
4. Sind die Konzentrationsverläufe der Zytokine im Serum und Aszites schon in den ersten Tagen nach LTX hinweisend auf eine später auftretende Komplikation?

2 Patienten und Methoden

2.1 Patienten

Im Zeitraum vom 13.01.1997 bis zum 22.02.1998 wurde bei 26 Kindern im Alter von 2 Monaten bis 16 Jahren (Median= 10.5 Jahre), am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf eine orthotope Lebertransplantation (LTX) durchgeführt. Die geschlechtliche Verteilung war vergleichbar (weiblich n=12, männlich n=14). Von den 26 Kindern erhielten 14 Kinder eine postmortem Spende, die anderen eine Leberlebend Spende (n=12) von einem Elternteil. In zwei Fällen handelte es sich um eine Zweittransplantation (Re-LTX) jeweils zwei Jahre nach primärer LTX bei chronischer Abstoßung. Die Grunderkrankungen, die zu einer Lebertransplantation geführt haben, waren Gallengangsatresie (n=15), progressive familiäre intrahepatische Cholestase (n=3), metabolische Erkrankungen (n=3), Autoimmunhepatitiden (n=3) und Leberversagen unklarer Genese (n=2).

Die Häufigkeitsverteilung der Kinder entsprechend der United Network for Organ Sharing-Einteilung (Annual Report of the US Scientific Registry of Transplant Recipient and Organ Procurement and Transplantation Network (2001), UNOS 1: Patient war zu Hause, UNOS 2: eingeschränkte Lebensqualität zu Hause, UNOS 3: hospitalisierte Patienten, UNOS 4: kritisch kranke, intensivpflichtige Patienten) wird in **Tabelle 1** aufgeführt.

UNOS	Anzahl der Patienten
1	1
2	14
3	10
4	1

Tabelle 1: Anzahl der Kinder in der Einteilung nach UNOS

Nach der Transplantation lagen die Kinder durchschnittlich 10 Tage auf der Intensivstation der Kinderklinik. In der frühen postoperativen Phase wurden die Kinder kontinuierlich überwacht in Bezug auf Vitalparameter. Es erfolgten regelmäßige Kontrollen der laborchemischen Parameter: Blutbild alle 12 Stunden, arterielle Blutgase und Elektrolyte alle 2 Stunden, Bilirubin im Serum und in der Penroseflüssigkeit alle 8 Stunden, Kreatinin, ALAT, ASAT, g-GT, Prothrombinzeit (PT), partielle Thromboplastinzeit (PTT), Antithrombin III und Albumin alle 8 Stunden. Einmal täglich wurden Wundabstriche, Blut- und Asziteskulturen mikrobiologisch untersucht (Ganschow et al. 2000).
In den ersten Tagen nach der Operation wurde das kardiovaskuläre System durch Messungen des zentralvenösen Druckes (ZVD) und des arteriellen Blutdrucks engmaschig kontrolliert. Alle 2 Stunden erfolgte eine Bilanzierung der Ein- und Ausfuhr.

2.2 Material

Für die Untersuchung der Zytokine IL-1ra, IL-10, IL-15, IL-2 sRα, IL-6, HGF und sTNF RII im Serum und im Aszites wurden konventionelle ELISA der Firma R&D Systems, (Abingdon, United Kingdom) verwendet, die sich im einzelnen wie folgt zusammensetzten :

Interleukin-1 Rezeptor-Antagonist (IL-1ra):
IL-1ra Polystyren Mikrotiterplatte bestehend aus 96 Vertiefungen (12 Streifen mit 8 Vertiefungen) die mit einem monoklonalen Antikörper gegen IL-1ra überzogen sind, IL-1ra Konjugat bestehend aus 21 ml eines polyklonalen Antikörpers gegen IL-1ra konjugiert mit Meeretichperoxidase und Konservierungsmittel, IL-1ra Standard in drei Gefäßen (6 ng/Gefäß) mit rekombinierten humanen IL-1ra in einer gepufferten Proteinlösung mit Konservierungsmittel (gefriergetrocknet), Testverdünnung RD1E bestehend aus 6 ml einer gepufferten menschlichen/tierischen Serums mit Konservierungsmittel, Kalibrator Verdünnung RD6G in 21 ml Tierserum mit Konservierungsmittel, Waschpuffer Konzentrat aus einer 21 ml einer 25-fachen konzentrierten Lösung eines gepufferten Surfactants mit Konservierungsmittel, Farb-Reagenz A einer 12.5 ml stabilisierten

Hydrogenperoxids, Farb-Reagenz B einer 12.5 ml stabilisierten Chromogens (Tetramethylbenzidin), Stopp-Lösung von insgesamt 6 ml einer 2N Schwefelsäure und Klebefolie als Plattenabdeckung.

Interleukin-10 (IL-10):
IL-10 Polystyren Mikrotiterplatte bestehend aus 96 Vertiefungen (12 Streifen mit 8 Vertiefungen) die mit einem monoklonalen Antikörper gegen IL-10 überzogen sind, IL-10 Konjugat bestehend aus 21 ml eines polyklonalen Antikörpers gegen IL-10 konjugiert mit Meeretichperoxidase und Konservierungsmittel, IL-10 Standard zusammengesetzt aus 2.5 ng einer rekombinierten humanen IL-10 in einer gepufferten Proteinlösung mit Konservierungsmittel (gefriergetrocknet), Testverdünnung RD1W bestehend aus 11 ml einer gepufferten Proteinlösung mit Konservierungsmittel, Kalibrator Verdünnung RD6P in 21 ml Tierserum mit Konservierungsmittel, Waschpuffer Konzentrat aus einer 21 ml einer 25-fachen konzentrierten Lösung eines gepufferten Surfactants mit Konservierungsmittel, Farb-Reagenz A einer 12.5 ml stabilisierten Hydrogenperoxids, Farb-Reagenz B einer 12.5 ml stabilisierten Chromogens (Tetramethylbenzidin), Stopp-Lösung von insgesamt 6 ml einer 2N Schwefelsäure und Klebefolie als Plattenabdeckung.

Interleukin-15 (IL-15):
IL-15 Polystyren Mikrotiterplatte bestehend aus 96 Vertiefungen (12 Streifen mit 8 Vertiefungen) die mit einem monoklonalen Antikörper gegen IL-15 überzogen sind, IL-15 Konjugat bestehend aus 21 ml polyklonalen Antikörper gegen IL-15 konjugiert mit Meeretichperoxidase und Konservierungsmittel, IL-15 Standard zusammengesetzt aus 2.5 ng einer rekombinierten humanen IL-15 in einer gepufferten Proteinlösung mit Konservierungsmittel (gefriergetrocknet), Testverdünnung RD1-19 bestehend aus 11 ml einer gepufferten Proteinlösung mit Konservierungsmittel, Kalibrator Verdünnung RD6-10 in 21 ml einer gepufferten Proteinlösung mit Konservierungsmittel, Waschpuffer Konzentrat aus einer 21 ml einer 25-fachen konzentrierten Lösung eines gepufferten Surfactants mit Konservierungsmittel, Farb-Reagenz A einer 12.5 ml stabilisierten Hydrogenperoxids, Farb-Reagenz B einer 12.5 ml stabilisierten Chromogens

(Tetramethylbenzidin), Stopp-Lösung von insgesamt 6 ml einer 2N Schwefelsäure und Klebefolie als Plattenabdeckung.

Hepatozyten Wachstumsfaktor (HGF):

HGF Polystyren Mikrotiterplatte bestehend aus 96 Vertiefungen (12 Streifen mit 8 Vertiefungen) die mit einem monoklonalen Antikörper gegen HGF überzogen sind, HGF Konjugat bestehend aus 21 ml eines polyklonalen Antikörpers gegen HGF konjugiert mit Meeretichperoxidase und Konservierungsmittel, HGF Standard in einem Gefäß (40 ng) mit rekombinierten humanen HGF in einer gepufferten Proteinlösung mit Konservierungsmittel (gefriergetrocknet), Testverdünnung RD1W bestehend aus 2 Gefäßen (11 ml/Gefäß) einer gepufferten Proteinlösung mit Konservierungsmittel, Kalibrator Verdünnung RD6X in 21 ml Tierserum mit Konservierungsmittel, Waschpuffer Konzentrat aus einer 21 ml einer 25-fachen konzentrierten Lösung eines gepufferten Surfactants mit Konservierungsmittel, Farb-Reagenz A einer 12.5 ml stabilisierten Hydrogenperoxids, Farb-Reagenz B einer 12.5 ml stabilisierten Chromogens (Tetramethylbenzidin), Stopp-Lösung von insgesamt 6 ml einer 2N Schwefelsäure und Klebefolie als Plattenabdeckung.

Interleukin-2 löslicher Rezeptor alpha (IL-2 sRα):

IL-2 sRα Polystyren Mikrotiterplatte bestehend aus 96 Vertiefungen (12 Streifen mit 8 Vertiefungen) die mit einem monoklonalen Antikörper gegen IL-2 sRα überzogen sind, IL-2 sRα Konjugat bestehend aus 11 ml polyklonalem Antikörper gegen IL-2 sRα konjungiert mit Meeretichperoxidase und Konservierungsmittel, IL-2 sRα Standard in drei Gefäßen (5 ng/Gefäß) mit rekombinierten humanen IL-2 sRα in einer gepufferten Proteinlösung mit Konservierungsmittel (gefriergetrocknet), Testverdünnung RD1-1 bestehend aus 11 ml einer gepufferten Proteinlösung mit Konservierungsmittel, Kalibrator Verdünnung RD6S aus 2 Gefäßen (21ml/Gefäß) eines tierischen Serums mit Konservierungsmittel, Kalibrator Verdünnung RD6G in 2 Gefäßen (21 ml/Gefäß) eines Tierserum mit Konservierungsmittel, Waschpuffer Konzentrat aus einer 21 ml einer 25-fachen konzentrierten Lösung eines gepufferten Surfactants mit Konservierungsmittel, Farb-Reagenz A einer 12.5 ml stabilisierten

Hydrogenperoxids, Farb-Reagenz B einer 12.5 ml stabilisierten Chromogens (Tetramethylbenzidin), Stopp-Lösung von insgesamt 6 ml einer 2N Schwefelsäure und Klebefolie als Plattenabdeckung.

Löslicher Tumor Nekrosefaktor Rezeptor II (sTNF RII):
sTNF RII Polystyren Mikrotiterplatte bestehend aus 96 Vertiefungen (12 Streifen mit 8 Vertiefungen) die mit einem monoklonalen Antikörper gegen sTNF RII überzogen sind, sTNF RII Konjugat bestehend aus 21 ml eines polyklonalen Antikörpers gegen sTNF RII konjugiert mit Meeretichperoxidase und Konservierungsmittel, sTNF RII Standard zusammengesetzt aus 2.5 ng einer rekombinierten humanen sTNF RII in einer gepufferten Proteinlösung mit Konservierungsmittel (gefriergetrocknet), Testverdünnung RD1E bestehend aus 6 ml einer gepufferten menschlichen/tierischen Serums mit Konservierungsmittel, Kalibrator Verdünnung RD6G in 2 Gefäßen (21 ml/Gefäß) eines Tierserums mit Konservierungsmittel, Waschpuffer Konzentrat aus einer 21 ml einer 25-fachen konzentrierten Lösung eines gepufferten Surfactants mit Konservierungsmittel, Farb-Reagenz A einer 12.5 ml stabilisierten Hydrogenperoxids, Farb-Reagenz B einer 12.5 ml stabilisierten Chromogens (Tetramethylbenzidin), Stopp-Lösung von insgesamt 6 ml einer 2N Schwefelsäure und Klebefolie als Plattenabdeckung.

Interleukin-6 (IL-6):
IL-6 Polystyren Mikrotiterplatte bestehend aus 96 Vertiefungen (12 Streifen mit 8 Vertiefungen) die mit einem monoklonalen Antikörper gegen IL-6 überzogen sind, IL-6 Konjugat bestehend aus 21 ml eines polyklonalen Antikörpers gegen IL-6 konjugiert mit Meeretichperoxidase und Konservierungsmittel, IL-6 Standard zusammengesetzt aus 1.5 ng eines rekombinierten humanen IL-6 und einer gepufferten Proteinlösung mit Konservierungsmittel (gefriergetrocknet), Testverdünnung RD1A bestehend aus 11 ml einer gepufferten Proteinlösung mit Konservierungsmittel, Kalibrator Verdünnung RD5A zusammengesetzt aus 21 ml einer gepufferten Proteinlösung mit Konservierungsmittel, Kalibrator Verdünnung RD6F in 21 ml Tierserum mit Konservierungsmittel, Waschpuffer Konzentrat aus einer 21 ml einer 25-fachen konzentrierten Lösung eines gepufferten Surfactants

mit Konservierungsmittel, Farb-Reagenz A einer 12.5 ml stabilisierten Hydrogenperoxids, Farb-Reagenz B einer 12.5 ml stabilisierten Chromogens (Tetramethylbenzidin), Stopp-Lösung von insgesamt 6 ml einer 2N Schwefelsäure und Klebefolie als Plattenabdeckung.

Zusätzlich wurden destilliertes Wasser, Eppendorf Pipetten mit gelber Spitze für 50 µl, blauen Spitzen für 100 µl, Mehrkanal Finnpipetten mit weißen Spitzen 300 µl zum Spülen, und ein ELISA Photometer MR5000 Dynastech mit der Absorption von 450 nm verwendet.

2.2.1 Materialgewinnung

Bei der Routineabnahme wurde jeden Morgen nach der Lebertransplantation bei den Kindern etwa 1 ml Vollblut und 1 ml Aszites aus einer abdominalen Drainage je in ein Serumröhrchen überführt. Die abdominale Drainage wurde während der LTX gelegt und lag im Durchschnitt sieben Tage. Die Blutentnahmen erfolgten im Durchschnitt bis zum 5. Tag.
Die Verarbeitung der Proben erfolgte unmittelbar, indem der Aszites und das Serum in einer Eppendorfzentrifuge für 2 min bei 13000 Umdrehungen pro Minute (UpM) zentrifugiert wurden. Der Überstand wurde in ein Eppendorfröhrchen mit einer Eppendorfpipette aliquotiert, und bei –80°C bis zur ELISA-Untersuchung tiefgefroren.

2.2.2 Durchführung des Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Die eingefrorenen Proben wurden zur Untersuchung bei Raumtemperatur in einem Probenhalter aufgetaut und mit Hilfe eines automatischen Mischers einzeln gemischt. Danach wurden die Proben für ca. 15 Sekunden bei 13000 U in der Biofuge 13, 17000 RPM (Firma Heraeus Sepatech) zentrifugiert.

Für die Vorbereitung wurden 20 ml Waschpufferkonzentrat mit destillierten Wasser zu 500 ml Waschpuffer verdünnt. Farb-Reagenz A wurde mit Farb-Reagenz B im Verhältnis 1:1 vermischt. Danach wurde die Standards der verschiedenen Zytokine der Firma R&D System (Abingdon, United Kingdom) vorbereitet und mit dem ELISA Kit des jeweiligen Zytokin, wie folgend beschrieben, untersucht:

IL-1ra

Der IL-1ra Standard wurde mit 2.0 ml der Kalibrator Verdünnung RD6G zu einer Grundlösung mit 3000 pg/ml hergestellt und für mindestens 15 min. inkubiert. Es folgte die Beschriftung von sechs Reagenzgläser mit 1500 pg/ml, 750 pg/ml, 375 pg/ml, 187.5 pg/ml, 93.8 pg/ml und 46.9 pg/ml. In jedes dieser Reagenzgläser wurde 500 µl der Kalibrator Verdünnung RD6G mit einer Eppendorfpipette pipettiert. Danach Erstellung einer Verdünnungsserie mit der Grundlösung (3000 pg/ml), indem 500 µl mit einer Eppendorfpipette in das 1500 pg/ml beschriftete Reagenzglas hinzugefügt wurden. Nach gutem Durchmischen wurde aus dem 1500 pg/ml beschrifteten Reagenzglas 500 µl mit einer Eppendorfpipette in das 750 pg/ml beschriftete Reagenzglas transferiert. Dieser Vorgang wurde für die restlichen der sechs Reagenzgläser fortgesetzt. Dabei galt als höchster Standard (3000 pg/ml) der unverdünnte IL-1ra Standard und als Null Standard (0 pg/ml) die Kalibrator Verdünnung RD6G.

In jede Vertiefung der 96 Mikrotiterplatte für IL-1ra wurden 50 µl der Testverdünnung RD1E mit einer Eppendorfpipette pipettiert. In den ersten Streifen wurden 200 µl des Standards und in die restlichen Vertiefungen 200 µl der Proben mit einer Eppendorfpipette transferiert, mit der Klebefolie abgedeckt und bei Raumtemperatur für zwei Stunden inkubiert worden. Nach Entfernung der Flüssigkeit aus allen Vertiefungen und einmaligen Ausklopfen der Mikrotiterplatte auf einem sauberen Papiertuch wurde diese mit einer Mehrkanal Finnpipette gewaschen indem in die Vertiefungen insgesamt dreimal 400 µl Waschpuffer pipettiert wurde mit nachfolgenden aspirieren der Flüssigkeit in den Vertiefungen und Ausklopfen auf sauberen Papiertuch. Anschließend wurde mit einer Finnpipette 200 µl vom IL-1ra Konjugat in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte hinzugefügt, und wieder mit einer Klebefolie abgedeckt um für zwei Stunden bei Raumtemperatur zu inkubieren. Nach dieser Zeit erfolgte ein erneutes waschen wie oben beschrieben. Dann wurde 200 µl der Substratlösung mit einer

Finnpipette in die Mikrotiterplatte hinzugefügt und für 20 min. inkubiert. Abschließend wurde 50 µl der Stopp-Lösung mit der Finnpipette in die Vertiefung pipettiert und bei ungleicher Färbung durch leichtes Antippen mit dem Finger der Mikrotiterplatte vermischt.

IL-10

Der IL-10 Standard wurde mit 5.0 ml der Kalibrator Verdünnung RD6P zu einer Grundlösung mit 500 pg/ml hergestellt und für mindestens 15 min. inkubiert. Es folgte die Beschriftung von sechs Reagenzgläser mit 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62.5 pg/ml, 31.2 pg/ml, 15.6 pg/ml und 7.8 pg/ml. In jedes dieser Reagenzgläser wurde 500 µl der Kalibrator Verdünnung RD6P mit einer Eppendorfpipette pipettiert. Danach Erstellung einer Verdünnungsserie mit der Grundlösung (500 pg/ml), indem 500 µl mit einer Eppendorfpipette in das 250 pg/ml beschriftete Reagenzglas hinzugefügt wurden. Nach gutem Durchmischen wurde aus dem 250 pg/ml beschrifteten Reagenzglas 500 µl mit einer Eppendorfpipette in das 125 pg/ml beschriftete Reagenzglas transferiert. Dieser Vorgang wurde für die restlichen der sechs Reagenzgläser fortgesetzt. Dabei galt als höchster Standard (500 pg/ml) der unverdünnte IL-10 Standard und als Null Standard (0 pg/ml) die Kalibrator Verdünnung RD6P.

In jede Vertiefung der 96 Mikrotiterplatte für IL-10 wurden 50 µl der Testverdünnung RD1W mit einer Eppendorfpipette pipettiert. In den ersten Streifen wurden 200 µl des Standards und in die restlichen Vertiefungen 200 µl der Proben mit einer Eppendorfpipette transferiert, mit der Klebefolie abgedeckt und bei Raumtemperatur für zwei Stunden inkubiert. Es folgte der Waschvorgang wie bei IL-1ra beschrieben. Anschließend wurde mit einer Finnpipette 200 µl vom IL-10 Konjugat in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte hinzugefügt, und wieder mit einer Klebefolie abgedeckt um für zwei Stunden bei Raumtemperatur zu inkubieren. Nach dieser Zeit erfolgte ein erneutes waschen wie oben beschrieben. Dann wurde 200 µl der Substratlösung mit einer Finnpipette in die Mikrotiterplatte hinzugefügt und für 30 min. inkubiert. Abschließend wurde 50 µl der Stopp-Lösung mit der Finnpipette in die Vertiefung pipettiert und bei ungleicher Färbung durch leichtes Antippen mit dem Finger der Mikrotiterplatte vermischt.

IL-15

Der IL-15 Standard wurde mit 1.0 ml destilliertem Wasser zu einer Grundlösung mit 2500 pg/ml hergestellt und für mindestens 15 min. inkubiert. Es folgte die Beschriftung von sechs Reagenzgläser mit 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62.5 pg/ml, 31.2 pg/ml, 15.6 pg/ml und 7.8 pg/ml. In jedes dieser Reagenzgläser wurde 500 µl der Kalibrator Verdünnung RD6P mit einer Eppendorfpipette pipettiert. Von der Kalibrator Verdünnung RD6-10 wurde 900 µl in das 250 pg/ml beschriftete Reagenzglanz mit einer Eppendorfpipette transferiert. Danach Erstellung einer Verdünnungsserie mit der Grundlösung (2500 pg/ml), indem 100 µl mit einer Eppendorfpipette in das 250 pg/ml beschriftete Reagenzglas hinzugefügt wurden. Nach gutem Durchmischen wurde aus dem 250 pg/ml beschrifteten Reagenzglas 500 µl mit einer Eppendorfpipette in das 125 pg/ml beschriftete Reagenzglas transferiert. Dieser Vorgang wurde für die restlichen der sechs Reagenzgläser fortgesetzt. Dabei galt als höchster Standard (2500 pg/ml) der IL-15 Standard und als Null Standard (0 pg/ml) die Kalibrator Verdünnung RD6-10.

In jede Vertiefung der 96 Mikrotiterplatte für IL-15 wurden 100 µl der Testverdünnung RD1W mit einer Eppendorfpipette pipettiert. In den ersten Streifen wurden 200 µl des Standards und in die restlichen Vertiefungen 200 µl der Proben mit einer Eppendorfpipette transferiert, mit der Klebefolie abgedeckt und bei Raumtemperatur für zwei Stunden inkubiert. Es folgte der Waschvorgang wie unter IL-1ra beschrieben. Anschließend wurde mit einer Finnpipette 200 µl vom IL-10 Konjugat in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte hinzugefügt, und wieder mit einer Klebefolie abgedeckt um für zwei Stunden bei Raumtemperatur zu inkubieren. Nach dieser Zeit erfolgte ein erneutes waschen wie oben beschrieben. Dann wurde 200 µl der Substratlösung mit einer Finnpipette in die Mikrotiterplatte hinzugefügt und für 30 min. inkubiert. Abschließend wurde 50 µl der Stopp-Lösung mit der Finnpipette in die Vertiefung pipettiert und bei ungleicher Färbung durch leichtes Antippen mit dem Finger der Mikrotiterplatte vermischt.

HGF

Der HGF Standard wurde mit 5.0 ml der Kalibrator Verdünnung RD6X zu einer Grundlösung mit 8000 pg/ml hergestellt und für mindestens 15 min. inkubiert. Es folgte die Beschriftung von sechs Reagenzgläser mit 4000 pg/ml, 2000 pg/ml, 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml und 125 pg/ml. In jedes dieser Reagenzgläser

wurde 500 µl der Kalibrator Verdünnung RD6X mit einer Eppendorfpipette pipettiert. Danach Erstellung einer Verdünnungsserie mit der Grundlösung (8000 pg/ml), indem 500 µl mit einer Eppendorfpipette in das 2000 pg/ml beschriftete Reagenzglas hinzugefügt wurden. Nach gutem Durchmischen wurde aus dem 2000 pg/ml beschrifteten Reagenzglas 500 µl mit einer Eppendorfpipette in das 1000 pg/ml beschriftete Reagenzglas transferiert. Dieser Vorgang wurde für die restlichen der sechs Reagenzgläser fortgesetzt. Dabei galt als höchster Standard (8000 pg/ml) der unverdünnte HGF Standard und als Null Standard (0 pg/ml) die Kalibrator Verdünnung RD6X.

In jede Vertiefung der 96 Mikrotiterplatte für HGF wurden 150 µl der Testverdünnung RD1W mit einer Eppendorfpipette pipettiert. In den ersten Streifen wurden 50 µl des Standards und in die restlichen Vertiefungen 50 µl der Proben mit einer Eppendorfpipette transferiert, mit der Klebefolie abgedeckt und bei Raumtemperatur für zwei Stunden inkubiert. Es folgte der Waschvorgang wie bei IL-1ra beschrieben. Anschließend wurde mit einer Finnpipette 200 µl vom HGF Konjugat in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte hinzugefügt, und wieder mit einer Klebefolie abgedeckt um für zwei Stunden bei Raumtemperatur zu inkubieren. Nach dieser Zeit erfolgte ein erneutes waschen wie oben beschrieben. Dann wurde 200 µl der Substratlösung mit einer Finnpipette in die Mikrotiterplatte hinzugefügt und für 30 Min. inkubiert. Abschließend wurde 50 µl der Stopp-Lösung mit der Finnpipette in die Vertiefung pipettiert und bei ungleicher Färbung durch leichtes Antippen mit dem Finger der Mikrotiterplatte vermischt.

IL-2 sRα

Der IL-2 sRα Standard wurde mit 1.0 ml der Kalibrator Verdünnung RD6S zu einer Grundlösung mit 5000 pg/ml hergestellt und für mindestens 30 min. inkubiert. Es folgte die Beschriftung von sechs Reagenzgläser mit 2500 pg/ml, 1250 pg/ml, 625 pg/ml, 312.5 pg/ml, 156.2 pg/ml und 78.1 pg/ml. In jedes dieser Reagenzgläser wurde 200 µl der Kalibrator Verdünnung RD6S mit einer Eppendorfpipette pipettiert. Danach Erstellung einer Verdünnungsserie mit der Grundlösung (5000 pg/ml), indem 200 µl mit einer Eppendorfpipette in das 2500 pg/ml beschriftete Reagenzglas hinzugefügt wurden. Nach gutem Durchmischen wurde aus dem 2500 pg/ml beschrifteten Reagenzglas 200 µl mit einer Eppendorfpipette in das 1250 pg/ml beschriftete Reagenzglas transferiert. Dieser Vorgang wurde für die

restlichen der sechs Reagenzgläser fortgesetzt. Dabei galt als höchster Standard (5000 pg/ml) der unverdünnte IL-2 sRα Standard und als Null Standard (0 pg/ml) die Kalibrator Verdünnung RD6S.

In jede Vertiefung der 96 Mikrotiterplatte für IL-2 sRα wurden 100 µl der Testverdünnung RD1-1 mit einer Eppendorfpipette pipettiert. In den ersten Streifen wurden 50 µl des Standards und in die restlichen Vertiefungen 50 µl der Proben mit einer Eppendorfpipette transferiert. Anschließend wurde mit einer Finnpipette 100 µl vom IL-2 sRα Konjugat in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte hinzugefügt, und wieder mit einer Klebefolie abgedeckt um für drei Stunden bei Raumtemperatur zu inkubieren. Nach dieser Zeit erfolgte ein waschen wie für IL-1 ra beschrieben. Dann wurde 200 µl der Substratlösung mit einer Finnpipette in die Mikrotiterplatte hinzugefügt und für 20 Min. inkubiert. Abschließend wurde 50 µl der Stopp-Lösung mit der Finnpipette in die Vertiefung pipettiert und bei ungleicher Färbung durch leichtes Antippen mit dem Finger der Mikrotiterplatte vermischt.

sTNF RII

Der sTNF RII Standard wurde mit 5.0 ml der Kalibrator Verdünnung RD6K zu einer Grundlösung mit 500 pg/ml hergestellt und für mindestens 15 min. inkubiert. Es folgte die Beschriftung von sechs Reagenzgläser mit 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62.5 pg/ml, 31.2 pg/ml, 15.6 pg/ml und 7.8 pg/ml. In jedes dieser Reagenzgläser wurde 500 µl der Kalibrator Verdünnung RD6G mit einer Eppendorfpipette pipettiert. Danach Erstellung einer Verdünnungsserie mit der Grundlösung (500 pg/ml), indem 500 µl mit einer Eppendorfpipette in das 250 pg/ml beschriftete Reagenzglas hinzugefügt wurden. Nach gutem Durchmischen wurde aus dem 250 pg/ml beschrifteten Reagenzglas 500 µl mit einer Eppendorfpipette in das 125 pg/ml beschriftete Reagenzglas transferiert. Dieser Vorgang wurde für die restlichen der sechs Reagenzgläser fortgesetzt. Dabei galt als höchster Standard (500 pg/ml) der unverdünnte sTNF RII Standard und als Null Standard (0 pg/ml) die Kalibrator Verdünnung RD6K.

In jede Vertiefung der 96 Mikrotiterplatte für sTNF RII wurden 50 µl der Testverdünnung RD1 mit einer Eppendorfpipette pipettiert. In den ersten Streifen wurden 200 µl des Standards und in die restlichen Vertiefungen 200 µl der Proben mit einer Eppendorfpipette transferiert, mit der Klebefolie abgedeckt und bei Raumtemperatur für zwei Stunden inkubiert. Es folgte der Waschvorgang wie bei

IL-1ra beschrieben. Anschließend wurde mit einer Finnpipette 200 µl vom sTNF RII Konjugat in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte hinzugefügt, und wieder mit einer Klebefolie abgedeckt um für zwei Stunden bei Raumtemperatur zu inkubieren. Nach dieser Zeit erfolgte ein erneutes waschen wie oben beschrieben. Dann wurde 200 µl der Substratlösung mit einer Finnpipette in die Mikrotiterplatte hinzugefügt und für 20 Min. inkubiert. Abschließend wurde 50 µl der Stopp-Lösung mit der Finnpipette in die Vertiefung pipettiert und bei ungleicher Färbung durch leichtes Antippen mit dem Finger der Mikrotiterplatte vermischt.

IL-6

Der IL-6 Standard wurde mit 5.0 ml der Kalibrator Verdünnung RD6F zu einer Grundlösung mit 300 pg/ml hergestellt und für mindestens 15 min. inkubiert. Es folgte die Beschriftung von sechs Reagenzgläser mit 100 pg/ml, 50 pg/ml, 25 pg/ml, 12.5 pg/ml, 6.25 pg/ml und 3.12 pg/ml. In das 100 pg/ml Reagenzglas wurde 667 µl der Kalibrator Verdünnung RD6F mit einer Eppendorfpipette pipettiert, während in die restlichen Reagenzgläser 500 µl der Kalibrator Verdünnung RD6F mit einer Eppendorfpipette pipettiert wurde. Danach Erstellung einer Verdünnungsserie mit der Grundlösung (300 pg/ml), indem 333 µl mit einer Eppendorfpipette in das 100 pg/ml beschriftete Reagenzglas hinzugefügt wurden. Nach gutem Durchmischen wurde aus dem 100 pg/ml beschrifteten Reagenzglas 500 µl mit einer Eppendorfpipette in das 50 pg/ml beschriftete Reagenzglas transferiert. Dieser Vorgang wurde für die restlichen der sechs Reagenzgläser fortgesetzt. Dabei galt als höchster Standard (300 pg/ml) der unverdünnte IL-6 Standard und als Null Standard (0 pg/ml) die Kalibrator Verdünnung RD6F.

In jede Vertiefung der 96 Mikrotiterplatte für IL-6 wurden 100 µl der Testverdünnung RD1A mit einer Eppendorfpipette pipettiert. In den ersten Streifen wurden 100 µl des Standards und in die restlichen Vertiefungen 100 µl der Proben mit einer Eppendorfpipette transferiert, mit der Klebefolie abgedeckt und bei Raumtemperatur für zwei Stunden inkubiert. Es folgte der Waschvorgang wie bei IL-1ra beschrieben. Anschließend wurde mit einer Finnpipette 200 µl vom IL-6 Konjugat in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte hinzugefügt, und wieder mit einer Klebefolie abgedeckt um für zwei Stunden bei Raumtemperatur zu inkubieren. Nach dieser Zeit erfolgte ein erneutes waschen wie oben beschrieben. Dann wurde 200 µl der Substratlösung mit einer Finnpipette in die Mikrotiterplatte

hinzugefügt und für 20 Min. inkubiert. Abschließend wurde 50 µl der Stopp-Lösung mit der Finnpipette in die Vertiefung pipettiert und bei ungleicher Färbung durch leichtes Antippen mit dem Finger der Mikrotiterplatte vermischt.

Die optische Dichte wurde bei 450 nm mit dem Photometer Dynatech MR 5000 gemessen und die Konzentration von IL-1ra durch einen Vergleich der Absorption mit der Standardkurve vom Computer ermittelt wurde.

2.3 Zytokine

Mit der ELISA-Technik sind die Zytokine, die mit ihren Eigenschaften in **Tabelle 2-8** dargestellt sind, im Serum und Aszites untersucht worden.

Zytokin	**sTNF RII**
Normwerte für Konzentration im Serum	1003-3170 pg/ml
Größe (Anzahl der Aminosäuren) und Form	75 kDa, besteht aus 469 Aminosäuren
Produzierende Zellen	Neutrophile, mononukleäre Blutzellen, Fibroblasten
Wirkung	Inhibiert die Bindung von TNFs an den zellulären Rezeptoren, und kann dadurch die biologische Wirkungen von TNFs neutralisieren. Es wird zwischen TNF-α und TNF-β unterschieden. TNF-α ist ein nicht glycosyliertes, 17kDa großes Protein mit einer Länge von 157 Aminosäuren. Es bildet Di- und Trimere. Mit TNF-β ist es zu 30% homolog. TNF-β ist an Position 62 N-glycosyliert und besteht aus 171 Aminosäuren. Es enthält keine Disulfid-Brücken. Beide TNF binden an die gleichen Rezeptoren.

Tabelle 2: Eigenschaften des löslichen Tumor Nekrose Faktor Rezeptor II (Andus et al. 1992, Van Zee et al. 1992, Ibelgaufts 1995)

Zytokin	**IL-2 sRα**
Normwerte für Konzentration im Serum	676-2132 pg/m
Größe (Anzahl der Aminosäuren) und Form	45-50 kDa
Produzierende Zellen	Aktivierte T- und B-Zellen NK-Zellen, Monozyten, Eosinophilen
Wirkung	IL-2 besteht aus 133 Aminosäuren. Es enthält eine Disulfidbrücke zwischen den Cystein-Resten 58 und 105, durch deren Zerstörung es zum Verlust der Aktivität kommen kann. Die biologische Wirkung von IL-2 wird über einen membran-gebundenen Rezeptor vermittelt. Es können drei verschiedene Typen von Rezeptoren unterschieden werden. Diese werden in unterschiedlichen Zellen unabhängig voneinander exprimiert. Der hochaffine IL-2 Rezeptor macht ca. 10% aller auf der Zelle vorhandenen IL-2 Rezeptoren aus und ist ein Komplex aus den beiden Untereinheiten IL-2Rα (p55) und IL-2Rβ (p75). Der IL-2 Rezeptor mittlerer Affinität besteht nur aus der β-Untereinheit und hat eine Länge von 251 Aminosäuren. Der IL-2 Rezeptor, bestehend aus der α-Untereinheit, hat eine niedrige Affinität zu IL-2. Die α-Kette wird erst nach Aktivierung auf Lymphozyten exprimiert. Dagegen wird die β-Kette schon auf ruhend Lymphozyten gefunden.

Tabelle 3: Eigenschaften von Interleukin-2 löslicher Rezeptor α (Elg et al. 1997, Ibelgaufts 1995)

Zytokin	**IL-1ra**
Normwerte für Konzentration im Serum	106-1552 pg/ml
Größe (Anzahl der Aminosäuren) und Form	Monomer, 23-25 kDa, 25 Aminosäuren
Produzierende Zellen	Makrophagen, Neutrophile, Monozyten, Fibroblasten
Wirkung	IL-1 wird hauptsächlich von aktivierten Makrophagen, Monozyten und Neutrophilen produziert. Es wird zwischen IL-1α und IL-1β unterschieden. IL-1β wird v. a. von stimulierten Makrophagen sezerniert. Beide Formen binden an den gleiche Rezeptor und zeigen daher ähnliche biologische Wirkungen. Es gibt zwei Formen des Rezeptors. Der Typ I-Rezeptor bindet mit gleicher Affinität an IL-1α und IL-1β und wird von T-Zellen sowie mesenchymaler Zellen exprimiert. Die gleichen Zellen die IL-1 exprimieren, sezernieren auch IL-1ra. IL-1ra bindet mit der gleichen Affinität an den IL-1 Rezeptor wie IL-1, ohne eine intrazelluläre Singaltransduktion zu initiieren. Dadurch antagonisiert IL-1ra als kompetitiv wirkender Inhibitor die Wirkung von IL-1.

Tabelle 4: Eigenschaften von Interleukin-1 Rezeptor Antagonist (Teppo et al. 1998, Grehan et al. 1997, Ibelgaufts 1995)

Zytokin	**HGF**
Normwerte für Konzentration im Serum	319-1475 pg/ml
Größe (Anzahl der Aminosäuren) und Form	82 kDa, bestehend aus einer 440 Aminosäuren langen α-Kette und 234 Aminsäuren langen β-Kette
Produzierende Zellen	Hepatozyten, Endothelzellen, Monozyten, Thrombozyten u. a.
Wirkung	HGF wird überwiegend von der Leber und vom Pankreas produziert. In der Leber sind Kupfferzellen und sinusoidale Endothelzellen überwiegend für die Produktion von HGF verantwortlich. Die Synthese von HGF wird stimuliert durch Erkrankungen des Lebergewebes. HGF ist ein Glykoprotein. HGF stimuliert die Proliferation von Hepatozyten, spielt aber auch eine wichtige Rolle in der Regeneration von Niere, Lunge und Skelettmuskel. HGF hat mitogene, morphologische und motogene Eigenschaften auf Hepatozyten, Endothelzellen und mesenchymale Zellen

Tabelle 5: Eigenschaften vom Hepatozyten Wachstumsfaktor (Michalopoulos et al. 1992, Zarnegar und Michalopoulos 1995, Ibelgaufts 1995)

Zytokin	**IL-15**
Normwerte für Konzentration im Serum	< 3.9 pg/ml
Größe (Anzahl der Aminosäuren) und Form	162 Amisäuren, 14-15 kDa
Produzierende Zellen	Mononukleäre Zellen des Blutes, epitheliale und fibroblastische Zellen, aber auch in Geweben von Herz, Lunge, Leber
Wirkung	IL-15 ist ein Glykoprotein. Hohe mRNA Konzentrationen von IL-15 konnten in Muskel, Plazenta und Niere nachgewiesen werden. Dagegen war eine Expression an mRNA in T-Zellen, die ansonsten wichtig für die IL-2 Produktion sind, nicht nachweisbar. Aufgrund der ähnlichen Struktur zu IL-2, ist auch die biologische Wirkung von der IL-2 sehr ähnlich, so bindet IL-15 an die β- und γ-Untereinheit des Rezeptors für IL-2 und überträgt eine Signaltransduktion. Áber IL-15 bindet nicht an die α-Untereinheit des IL-2 Rezeptors. IL-15 stimuliert den Wachstum von NK-Zellen, aktiviert T-Zellen, Wachstum und Differenzierung der B-Zellen, hemmt die Produktion inflammatorischer Zytokine durch Makrophagen.

Tabelle 6: Eigenschaften von Interleukin-15 (Janeway und Travers 1997, Ibelgaufts 1995)

Zytokin	**IL-6**
Normwerte für Konzentration im Serum	< 3.13 pg/ml
Größe (Anzahl der Aminosäuren) und Form	26 kDa, 184 Aminosäuren
Produzierende Zellen	T- und B-Zellen, Makrophagen, Monozyten, Fibroblasten, Hepatozyten, Endothelzellen, Granulozyten, glatte Muskelzellen, Eosinophile, Chondrozyten, Mastzellen, Gliazellen, Keratinozyten
Wirkung	IL-6 hat eine pleiotrope Wirkung. Es beeinflusst die antigenspezifische Immunantwort und inflammatorische Reaktion. Es ist ein Schlüsselzytokin der Akuten-Phase-Antwort, indem es die Synthese der Akute-Phase-Proteine (APP) in Hepatozyten induziert. Die APP zusammen mit IL-6 bewirken in den Makrophagen eine Synthese der Zytokine IL-1ra und sTNF Rs. IL-6 wirkt als Differenzierungsfaktor für B-Zellen und als Aktivierungsfaktor für T-Zellen. Ebenfalls induziert IL-6 die Proliferation von Thymozyten. Bei B-Zellen stimuliert IL-6 eine Sekretion von Antikörpern. IL-6 wirkt ebenfalls als Thrombopoietin und induziert die Reifung von Megakaryozyten. Plasmazellen produzieren sowohl IL-6 als auch den IL-6 Rezeptor.

Tabelle 7: Eigenschaften von Interleukin-6 (Heinrich et al. 1990, Elliot et al. 2003, Ibelgaufts 1995)

Zytokin	**IL-10**
Normwerte für Konzentration im Serum	< 7.8 pg/ml
Größe (Anzahl der Aminosäuren) und Form	160, Monomer
Produzierende Zellen	Primär von Th2-Zellen und Makrophagen, aktivierte CD4+-T-Zellen, Monozyten und periphere T-Zellen im Blut
Wirkung	IL-10 ist ein Dimer mit pleiotrope Eigenschaften. IL-10 inhibiert bei Th1-Zellen die Synthese von verschiedenen Zytokinen wie u. a. INF-γ, IL-2 und TNF-β. Die IL-10 Produktion wird von Th1- und Th2-Zellen reguliert. In Makrophagen hemmt IL-10 die Synthese von IL-1, IL-6 und TNF-α. Außerdem führt es zu einer Hemmung der Antigenpräsentation. Zusammen mit IL-3 und IL-4 führt IL-10 zu einer Proliferation von Mastzellen und peripheren Lymphozyten. In der Entwicklung von Thymozyten ist IL-10 ein wichtiger Faktor. Bei B-Zellen führt IL-10 zu einer vermehrten Expression an MHC-Klasse-II-Antigenen. Dagegen wird die Expression der MHC-Klasse-II-Antigene bei Monozyten gehemmt. IL-10 führt zu einer Sekretion von IgG, IgA und IgM bei B-Zellen. Die Aktivierung von Makrophagen kann durch IL-10 verhindert werden.

Tabelle 8: Eigenschaften von Interleukin-10 (Powrie et al. 1993, Yssel et al. 1992. Ibelgaufts 1995)

2.4 Medikation nach Lebertransplantation

Die Immunsuppression nach LTX wurde initial mit Prednisolon (60 mg/ml) und Cyclosporin A (1-2 mg/kg/d) durchgeführt. Den ersten Monat nach der LTX sollte der Talspiegel für CsA bei 150-200 ng/ml (monoklonale Antikörper FPIA, Abbot) liegen. Die Reduktion der Steroide wurde nach der ersten Woche begonnen, und es folgte ein langsames Ausschleichen bis zum 12. Monat postoperativ. Zur antibiotischen Prophylaxe wurde im Anschluß an die Operation Ampicillin (200 mg/kg), Cefotaxim (100 mg/kg) und Metronidazol (20 mg/kg) für fünf bis sieben Tage gegeben. Außerdem erhielten die Kinder zur Verbesserung der Rheologie Heparin (100-300 IE/kg/d), dass nach sieben Tagen auf Acetylsalicylsäure (5 mg/kg/3x/Woche) umgesetzt wurde. Dopamin (3-10 µg/kg/min), und Furosemid (1-3 mg/kg/d) wurden abhängig von der kardiovaskulären Situation und Wasserhaushalt verabreicht. Verluste über die abdominalen Drainagen wurden durch die Gabe von 5% Albumin und Kochsalzlösungen ausgeglichen. Bei Bedarf erfolgte die Substitution mit Antithrombin III Konzentrat oder Fresh Frosen Plasma bei AT III <65%. Häufig war auf Grund der Nebenwirkung der Imunnsupressivatherapie eine antihypertensive Therapie nötig. In der Regel wurde Nifedipin (2-5 mg/Dosis) verwendet. Zur Prophylaxe eines Streß- oder Steroid-induzierten Ulkus wurde gelegentlich Ranitidin (2-4 g 4x täglich) oder Omeprazol (5-10 mg 2x täglich) eingesetzt. Selten war es notwendig Prostaglandin E1 Alprostadil (0.2 µg/kg/h) bei ungenügendem arteriellen Fluß in der Arteria hepatica zur Gefäßdilatation zu geben. Um die Kinder schnell zu extubieren wurde so früh wie möglich auf Sedativa verzichtet.

Im Falle einer histologisch gesicherten Abstoßung wurde als Bolustherapie Methylprednisolon (10 mg/kg i.v.) für mindestens drei Tage verabreicht. Wenn der Verdacht auf eine Pilzinfektion bestand oder diese nachgewiesen wurde, wurde sie mit Fluconazol (3-6 mg/kg/d i.v.) oder Amphotericin B (1mg/kg/d i.v.) therapiert. Die Prophylaxe einer CMV Infektion wurde nur bei CMV-negativen Empfängern, die eine Leber von einem CMV-positiven Spendern erhielten, mit Ganciclovir durchgeführt. Eine gesicherte CMV Infektion wurde mit Ganciclovir (10 mg/kg/d) für mindestens bis vier Wochen behandelt.

2.5 Diagnostik und Therapie einer akuter Abstoßungsreaktion

Klinisches Zeichen einer akuten Abstoßung sind Fieber, Ikterus, Aszites und ggf. abdominale Beschwerden (Goss et al. 1996). Laborchemisch lassen sich ein Anstieg des Gesamtbilirubins, der Transaminasen (ALAT, ASAT), alkalische Phosphatase, oder der gGT nachweisen (Goss et al. 1996). Häufig steigt auch das CRP mit an. Die klinischen Zeichen und biochemischen Parameter sind bei einer Abstoßung nicht einheitlich, deshalb sollte bei Verdacht auf eine Abstoßung immer eine Leberbiopsie vorgenommen werden. Insbesondere deshalb, weil eine genaue Differenzierung zur Infektion oftmals nicht möglich ist. Die Leberbiospate wurden in dem Institut für Pathologie im Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf aufgearbeitet. Typische Zeichen einer Abstoßung sind in der Histologie gemischte entzündliche Infiltrate der Portalfelder mit subendothelialer lymphoider Infiltration (Endothelialitis), und eine entzündliche Infiltration der Gallegänge. Die Schweregradeinteilung wurden nach den Banff-Kriterien in mild, mäßige und schwere Abstoßungsreaktion vorgenommen. Insgesamt ist die Diagnostik bei Kinder schwierig, da besonders bei Säuglingen klinische Symptome fehlen können (Demetris et al. 1997).

2.6 Diagnostik und Therapie von postoperativen Infektionen

Während der Infektion kann es zu einer BSG-Beschleunigung, einem CRP-Anstieg und einer Leukozytose kommen. Klinisch werden eine Verschlechterung des Allgemeinzustandes, Fieber und die typischen Zeichen für eine spezifische Infektion beobachtet. Am häufigsten sind bakterielle Infektionen mit Steptokokken species, Pseudomonas aeruginosa und Staphylokokken (Kelly et al. 2001). Die meisten bakteriellen Infektionen treten klinisch als Sepsis auf. Aber eine bakterielle Infektion kann sich auch als Cholangitis, Pneumonie, Peritonitis, Abszess im Abdmonen oder als Wundinfekt manifestieren (Drews et al. 1997). Bei den Virusinfektionen handelt es meistens um Infektionen mit CMV oder EBV, die in der Regel frühsten nach drei bis vier Wochen nach der LTX auftreten.

Pilzinfektion treten selten nach LTX auf. Am häufigsten sind abdominale oder pulmonale lokalisierte oder Katheter assoziierte Infektionen. Der Erregernachweis erfolgt mit Hilfe von Blutkulturen, Serologie, oder Wundabstrichen.

2.7 Statistik

Die gemessene Daten wurden mit dem Spearman-Test auf die Korrelation im Serum und Aszites geprüft. Die Konzentrationsverläufe der Zytokine im Serum und Aszites bei Komplikationen wurden mit dem Wilcoxon Signed Rank Test und dem Mann-Whitney Rank Sum Test auf die Signifikanz der Werte getestet. Dabei ist $p<0.05$ signifikant, $p<0.01$ sehr signifikant und $p<0.001$ hoch signifikant. Die Berechnungen wurden mit Sigma Plot Version 2.0 durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Korrelation der Zytokinkonzentrationen von Aszites und Serum

Bei 26 Kindern nach LTX wurde das zu untersuchende Serum bei den täglichen Routine Blutabnahmen mit abgenommen. Aszites wurde aus einer abdominal liegenden Drainage, die zwischen 4 und 27 Tagen Aszites förderte, gewonnen. Mittels ELISA-Technik wurden die Zytokine IL-1ra, IL-2 sRα, IL-10, IL-15, IL-6, sTNF RII und HGF im Aszites und Serum bei 26 Kindern nach der LTX gemessen.

Das Serum ist mit dem Aszites nach dem Spearman-Test bei 26 Patienten an Durchschnittlich 12 Tagen miteinander korreliert worden. Die Korrelation von IL-1ra, IL-2 sRα, IL-10, IL-15, sTNF RII und HGF zwischen Serum und Aszites war hoch signifikant. Von IL-6 war die Korrelation zwischen Serum und Aszites sehr signifikant. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 9** zu zusammengefasst.

Zytokine	IL-1ra	IL-2 sRα	IL-10	IL-15	IL-6	sTNF RII	HGF
	Serum/ Aszites	Serum/ Aszites	Serum/ Aszites	Serum/ Aszites	Serum/ Aszites	Serum/ Aszites	Serum/ Aszites
Korrelationsko-effizienten r	0.310	0.677	0.637	0.407	0.186	0.548	0.271
Signifikanz p	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.01	<0.001	<0.001

Tabelle 9: Korrelation der gemessenen Zytokine von Serum zu Aszites bei 26 Kindern nach Lebertransplantation

Die Korrelation der Zytokine wurde unabhängig von dem Verlauf nach LTX vorgenommen. Eine signifikante Korrelation von Serum zum Aszites bedeutet, dass eine Messung der Zytokine im Aszites möglich ist. Dabei können die Zytokine im Verlauf nach LTX genau wie die Zytokine im Serum Hinweise auf

mögliche Komplikationen geben. Die Abbildungen zur Korrelation der gemessenen Zytokine sind im Anhang dargestellt.

3.2 Zytokinkonzentration im Serum und Aszites bei akuter Abstoßung

Die Diagnose der akuten Abstoßung wurde anhand der klinischen Symptome wie Fieber, Ikterus, Aszites und der laborchemischen Befunde, wie Anstieg des Gesamtbilirubins, Transaminasen, alkalische Phosphatase oder γGT, gestellt. Zusätzlich wurde zur Sicherung der Diagnose eine perkutane Leberbiopsie durchgeführt. Bei insgesamt neun Patienten (=35%) trat eine Abstoßung zwischen dem 2. und 9. Tag nach der Operation auf. Beim Vergleich der Zytokine zwischen Serum und Aszites ist bei IL-1ra wie in **Abbildung 2** dargestellt ein kontinuierlicher Anstieg im Aszites während der akuten Abstoßung zu sehen. Dabei kommt es bereits 48 Stunden vor der Abstoßung bis zum Tag der akuten Abstoßung zu einem signifikanten Anstieg von IL-1ra im Aszites ($p<0.05$). Die Konzentration von IL-1ra im Aszites ist am Tag der akuten Abstoßung im Vergleich zur Konzentration im Serum signifikant erhöht ($p<0.05$). Die Konzentration von IL-1ra im Serum blieb im wesentlichen unverändert.

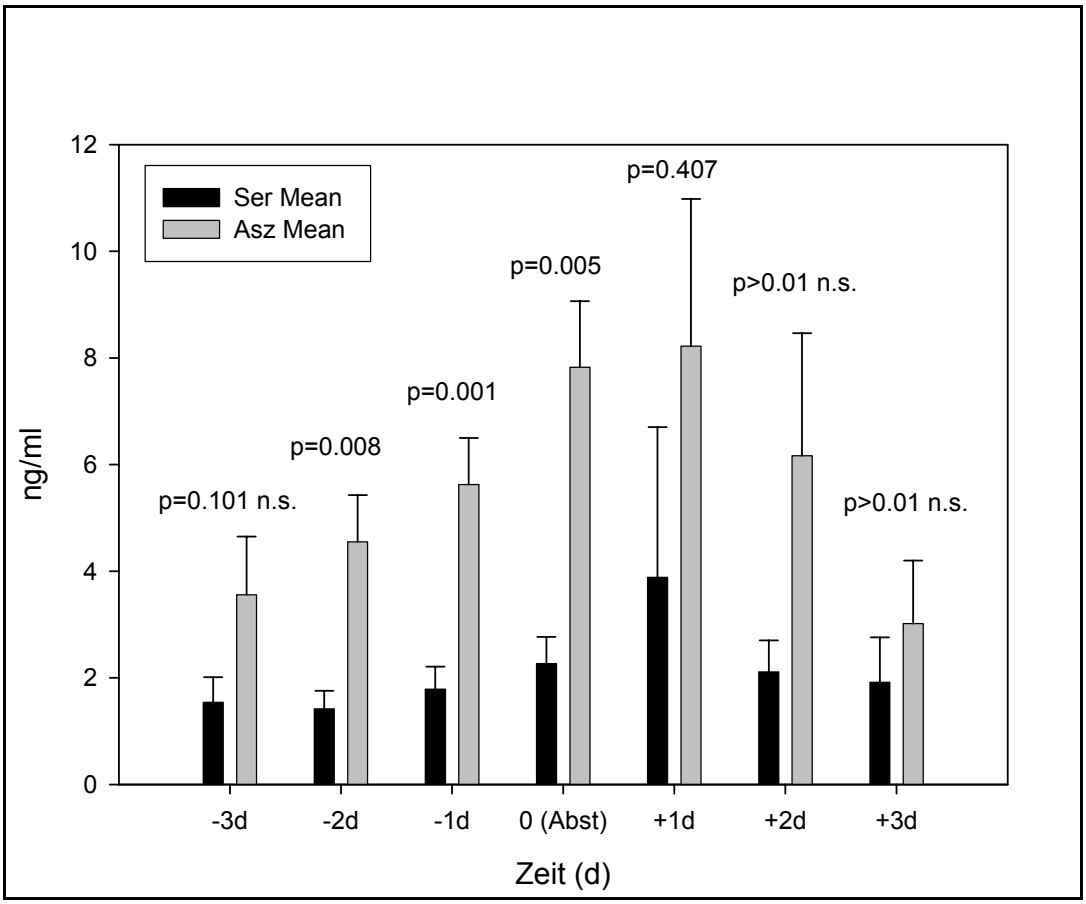


Abbildung 2: Konzentration von Interleukin-1 Rezeptor Antagonist (Mittelwert ± SD) im Serum und Aszites bei 9 Patienten während der akuten Abstoßung

Der Verlauf der anderen Zytokine ließ keine eindeutigen Rückschlüsse auf eine Abstoßung schließen, wie aus **Tabelle 10** zu ersehen ist. Zwar war auch bei IL-10 im Aszites ein Anstieg der Konzentration bei einer Abstoßung zu sehen. Dieser war jedoch nicht signifikant. Bei IL-6 fiel auf, daß die Konzentration im Aszites während der Abstoßung höher war als im Serum. Am Tag der Abstoßung, sowie bereits zwei Tage vorher war die Konzentration im Aszites zu der im Serum signifikant erhöht ($p<0.05$). Die Konzentration von IL-15 war im Aszites während der akuten Abstoßung, und drei Tage vorher im Vergleich zu der im Serum signifikant erhöht ($p<0.001$). Erst drei Tage nach der akuten Abstoßung nähern sich die Konzentrationen zwischen Serum und Aszites wieder an. Dagegen war die Konzentration von IL-2 sRα im Serum im Vergleich zum Aszites erhöht, während der akuten Abstoßung und bereits einen Tag vorher sogar signifikant

($p<0.05$). Der Verlauf von HGF und sTNF RII zeigte keinen besonderen Anstieg oder Abfall im Aszites oder Serum. Die Konzentration von HGF oder sTNF RII war in beiden Medien annähernd gleich.

		Tage	-3d	-2d	-1d	Absto-ßung	+1d	+2d	+3d
Serum	sTNF RII	ng/ml	9.60	9.65	10.00	11.37	9.30	13.05	11.22
	IL-2 sRα	ng/ml	8.14	12.3	10.83	10.08	10.53	7.78	7.42
	IL-1 ra	ng/ml	1.54	1.42	1.79	2.27	4.40	2.11	1.92
	HGF	ng/ml	4.13	6.40	4.31	4.88	3.43	3.33	3.58
	IL-15	pg/ml	2.39	2.38	2.14	2.73	1.82	2.35	2.08
	IL-6	pg/ml	346	434	707	282	383	185	515
	IL-10	pg/ml	35.3	52.9	141	122	22.5	38.6	28.3
Aszites	sTNF RII	ng/ml	10.51	9.39	9.76	10.60	10.04	10.87	10.70
	IL-2 sRα	ng/ml	5.00	5.97	4.05	4.79	3.52	2.36	4.75
	IL-1ra	ng/ml	3.56	4.55	5.63	7.82	8.22	6.17	3.02
	HGF	ng/ml	5.71	6.13	5.43	5.10	4.10	2.79	2.13
	IL-15	pg/ml	5.57	5.69	5.09	5.48	4.84	5.40	3.95
	IL-6	pg/ml	865	1314	1404	1331	656	859	487
	IL-10	pg/ml	46.5	54.2	36.4	70.2	50.7	140.9	23.3

Tabelle 10: Mittelwerte von Zytokinen im Serum und Aszites bei neun Patienten während der akuten Abstoßung

3.3 Zytokinkonzentrationen im Serum und Aszites bei Infektionen

Insgesamt sechs Patienten hatten im Verlauf vom ersten bis zum sechsten Tag nach der LTX eine Infektion. Der Verdacht auf eine Infektion wurde anhand verschiedener klinischer Zeichen wie z. B. einer Erhöhung der Körpertemperatur über 38°C mit Anstieg der laborchemischen Parametern gestellt. Mit dem gleichzeitigen Nachweis von Bakterien in der Abdominaldrainage, an der ZVK-Spitze, im Rachenabstrich, in der Blutkultur oder einem positiven serologischen Nachweis wurde die Diagnose bestätigt. Die Art der Infektion und Lokalisationen sind in **Tabelle 11** dargestellt.

Patient	Art des Keimes	Lokalisation
Patient Nr. 1	-	Pneumonie
Patient Nr. 2	Klebsiellae pneumoniae	Drainage, Blutkultur
Patient Nr. 3	Enterokokken species und Klebsiella pneuminiae,	Drainage
Patiente Nr. 4	Enterokokkus species	Drainage
Patient Nr. 5	Enterobacter cloacae	Drainage
Patient Nr. 6	Candida albicans	ZVK-Spitze

Tabelle 11: Lokalisation und Keimdifferenzierung bei sechs Kindern nach Lebertransplantation

Von den insgesamt sechs Patienten hatten fünf eine bakterielle Infektion mit den Keimen Klebsiella pneumoniae, Enterokokken und Enterobacter cloacae. Die primäre prophylaktisch gegebene Antibiose wurde antibiogrammgerecht umgestellt.

Bei einem weiteren Kind traten klinische Zeichen einer Infektion auf. Im Bauchabstrich wurden Pilze nachgewiesen. Es kam zu einem Anstieg des Antikörpertiter gegen Candida albicans im Serum. Entsprechend wurde der Patient mit Amphotericin systemisch behandelt.

Die gemessenen Daten der Zytokine während der Infektion sind in **Tabelle 12** zusammengefaßt. Das Zytokin IL-6 war im Aszites gegenüber dem Serum während der Infektion in erhöhter Konzentration zu messen. Am Tag der Infektion und einen Tag später, war die Konzentration von IL-6 im Aszites zum Serum signifikant erhöht ($p<0.05$). Im Verlauf von IL-15 war im Aszites am Tag der Infektion und 24 Stunden danach eine höhere Menge im Aszites als im Serum zu messen, dieses Konzentrationsgefälle war signifikant ($p<0.05$). Beim Zytokin IL-10 zeigte sich im Serum ein deutlicher Abfall zum Zeitpunkt der Infektion hin, der allerdings nicht signifikant war. Die Zytokine IL-2 sRα, sTNF RII, IL-1ra, und HGF wiesen, wie in **Tabelle 12** dargestellt, keine besonderen Verläufe im Serum oder Aszites auf.

		Tage	-3d	-2d	-1d	Infektion	+1d	+2d	+3d
Serum	sTNF RII	ng/ml	6.8	9.95	8.65	9.82	8.98	11.8	12
	IL-2 sRα	ng/ml	4	14.1	7.9	7.48	6.62	11.9	11.7
	IL-1ra	ng/ml	17.7	7.75	5.43	4.65	1.88	2.6	3.8
	HGF	ng/ml	1.8	4	1.7	4.94	3.84	3.6	2.8
	IL-15	pg/ml	4	3.2	4.85	3.22	4.10	4.80	4.74
	IL-6	pg/ml	66.6	86.7	285	249.2	46	380	346
	IL-10	pg/ml	193	775	42.9	34.8	27	46.8	56.5
Aszites	sTNF RII	ng/ml	9.20	10	6.38	10.9	12	10.5	11.7
	IL-2 Rα	ng/ml	4.7	108	2.48	8.63	5.84	9.97	11.3
	IL-1ra	ng/ml	3.2	10.1	8.13	14.57	10.78	2.1	14.63
	HGF	ng/ml	4.2	12.4	4.03	10.33	11.52	6.53	6.77
	IL-15	pg/ml	8.4	5.43	7.1	7.93	10.92	6.17	7.68
	IL-6	pg/ml	1071	1026	797	1147	846	848	1091
	IL-10	pg/ml	28.6	795	47.1	38.7	127.2	54.6	201.8

Tabelle 12: Mittelwerte von Zytokinen im Serum und Aszites bei sechs Patienten während einer Infektion nach Lebertransplantation

3.4 Zytokinkonzentrationen im Serum und Aszites bei weiteren Komplikationen

Eine erneute LTX musste bei vier Patienten, zwischen dem 4. und 23. postoperativen Tag, aufgrund einer initialen Nicht-Funktion (INF) vorgenommen werden. An ein Multiorganversagen (MOV) verstarben zwischen dem 6. und 25. postoperativen Tag vier Patienten. Einer der Patient war bereits vorher am 17. post operativen Tag zum zweitenmal lebertransplantiert worden. Die gemessenen Daten sind in **Tabelle 13** und **Tabelle 14** dargestellt.

In der Gruppe mit INF war zu beobachten, daß IL-6 im Serum vor der zweiten Transplantation deutlich erhöht ist und nach der Operation abfällt. Dagegen läßt

sich im Aszites für IL-6 kein eindeutiger Verlauf nachweisen. Die Verläufe der Zytokinen sTNF RII, IL-2 sRα, IL-1ra, HGF, IL-15 und IL-10 waren sowohl im Serum als auch im Aszites während der INF nicht auffällig.

HGF zeigte bei Patienten während des MOV eine erhöhte Zytokinkonzentration im Serum und Aszites. Bei IL-10 fiel im Aszites während des MOV eine erhöhte Konzentration gegenüber den Patienten mit akuter Abstoßung oder Infektionen auf. IL-2 sRα und IL-6 zeigten während des MOV sowohl im Serum als auch im Aszites eine höhere Konzentration als während der Abstoßung oder Infektion. Im Gegensatz dazu war bei IL-1ra im Serum und Aszites eine Abnahme im Vergleich zu Patienten mit einer Abstoßung oder Infektion zu sehen. Das Zytokin sTNF RII war während des MOV im Serum in höheren Konzentrationen messbar als im Aszites. Beim Vergleich zu den Patienten mit einer Abstoßung oder Infektion ließen sich bei sTNF RII im Serum höhere Konzentrationen während des MOV finden. Im Aszites kam es einen Tag vor dem MOV zu einem Abfall von sTNF RII. Unterschiede im Verlauf zu Patienten mit INF waren nicht zu sehen. Während des MOV war bei IL-15 im Aszites und Serum keine Differenzierung festzustellen.

		Tage	-3d	-2d	-1d	Re-LTX	+1d	+2d	+3d
Serum	sTNF RII	ng/ml	14.7	13.9	16.4	-	10.6	13.6	12.9
	IL-2 sRα	ng/ml	8.83	11.2	8.9	-	7	7.87	10.33
	IL-1ra	ng/ml	9.67	4.73	2	-	1.8	1.43	0.77
	HGF	ng/ml	6.37	7.67	3.2	-	4.1	8	7.8
	IL-15	pg/ml	3.8	4.77	3.2	-	5	4.03	5.83
	IL-6	pg/ml	187	504	304	-	24.4	97.1	43.8
	IL-10	pg/ml	64.6	83.9	54.4	-	14	69.6	89.6
Aszites	sTNF RII	ng/ml	12.6	14.1	14.8	12.5	11.9	12.7	10.2
	IL-2 sRα	ng/ml	4.9	4.77	5.65	1.1	8.3	6.65	10.3
	IL1ra	ng/ml	11.5	13	8.8	12.8	10.2	3.5	4.97
	HGF	ng/ml	6.97	7.67	8.4	3.5	10.7	12.7	14.1
	IL-15	pg/ml	6	5.97	4.3	2.8	2.9	7.1	8.2
	IL-6	pg/ml	1762	1493	782	2534	1397	687	1733
	IL-10	pg/ml	175	195	74.8	162	104	96.7	96.1

Tabelle 13: Mittelwerte von Zytokinen im Serum und Aszites bei vier Patienten während der initialen Nicht-Funktion nach Lebertransplantation

		Tage	-3d	-2d	-1d	MOV
Serum	sTNF RII	ng/ml	13.5	13.4	14.3	16.2
	IL-2 sRα	ng/ml	13.3	9.15	18.2	25.9
	IL-1ra	ng/ml	16.2	9.03	7.67	0.4
	HGF	ng/ml	6.75	10.4	14.3	18.2
	IL-15	pg/ml	3.6	7.3	6.87	13.1
	IL-6	pg/ml	2817	126	1183	867
	IL-10	pg/ml	114	105	178	220
Aszites	sTNF RII	ng/ml	12.5	10.4	8.83	10.8
	IL-2 Rα	ng/ml	10.3	10.5	12.5	18.9
	IL1ra	ng/ml	16.7	12.7	5.3	1.8
	HGF	ng/ml	15.2	11	17.9	18
	IL-15	pg/ml	6.2	11.37	15.7	4.2
	IL-6	pg/ml	2203	1252	1392	1825
	IL-10	pg/ml	253	97.1	278	127

Tabelle 14: Mittelwerte von Zytokinen im Serum und Aszites bei vier Patienten während des Multiorganversagens nach Lebertransplantation

3.5 Zytokinkonzentration in den ersten Tagen nach Lebertransplantation

Die ersten Tage auf der Intensivstation nach LTX sind für das Ergebnis bestimmend, da die meisten Komplikationen in den ersten Tagen nach LTX auftreten. Deshalb verglichen wir die ersten fünf Tage nach LTX die Zytokine IL-1ra, sTNF RII, IL-2 sRα, HGF, IL-6, IL-10 und IL-15 im Serum und Aszites miteinander um zu sehen, ob es in der frühen postoperativen schon Hinweise für eine Komplikation gibt. Dazu wurden vier Gruppen mit den jeweiligen Komplikationen gebildet. Eine Gruppe waren die Patienten, die im Verlauf eine akute Abstoßungsreaktion erlitten (n=9). Patienten mit einer im Verlauf auftretenden Infektion fassten wir als zweite Gruppe zusammen (n=6). Die dritte Patientengruppe waren Patienten mit einer INF (n=4). Als vierte Gruppe fassten

wir Patienten mit einem MOV zusammengefasst (n=9). Die Ergebnisse sind für die verschiedenen Gruppen in den **Tabelle 15 - 18** dargestellt.

		prä OP	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5
sTNF RII Serum	ng/ml	6.3	5.4	9.15	9.25	8.35	10
sTNF RII Aszites	ng/ml	-	7.5	8	8.1	7.2	10.1
IL-2 sRα Serum	ng/ml	5.3	3.5	5.4	7.15	8.2	4.7
IL-2 sRα Aszites	ng/ml	-	4.45	3.7	3	3.3	2.65
IL-1ra Serum	ng/ml	0.6	4.6	1.95	0.9	0.85	1.2
IL-1ra Aszites	ng/ml	-	4.9	3.2	3.5	5.7	6.45
HGF Serum	ng/ml	2.3	4.2	4.1	2.45	2.3	5.05
HGF Aszites	ng/ml	-	3.45	4.7	4.7	4.3	4.65
IL-15 Serum	pg/ml	1.4	2.4	2.55	2.6	2.35	1.45
IL-15 Aszites	pg/ml	-	4.35	5.3	4.5	5.5	5.4
IL-6 Serum	pg/ml	8	36.7	61.5	63.5	220	147
IL-6 Aszites	pg/ml	-	1218	766	1088	833	1192
IL-10 Serum	pg/ml	7.4	23.2	9.5	8.05	31.4	17.9
IL-10 Aszites	pg/ml	-	99.1	7	1.1	18.8	77.8

Tabelle 15: Konzentrationsverläufe (Mediane) der Zytokine im Serum und Aszites in den ersten Tagen nach Lebertransplantation bei neun Patienten mit akuter Abstoßung

		prä OP	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5
sTNF RII Serum	ng/ml	5.4	7.65	7.6	11.4	9.1	8.5
sTNF RII Aszites	ng/ml	-	8.15	8.5	7.4	11	14.2
IL-2 sRα Serum	ng/ml	2.4	3.4	4.65	4.65	4.6	4
IL-2 sRα Aszites	ng/ml	-	3.65	5.6	2.25	4.1	2.4
IL-1ra Serum	ng/ml	0.3	3.8	4.1	2.45	2	1.6
IL-1ra Aszites	ng/ml	-	9.5	7.1	3.9	9.5	15.8
HGF Serum	ng/ml	2.8	1.8	3.1	1.2	1.6	1.9
HGF Aszites	ng/ml	-	3.15	7.1	4.3	8.2	19.7
IL-15 Serum	pg/ml	2.4	4.05	3.4	4.35	3.9	2.5
IL-15 Aszites	pg/ml	-	8.2	8	9.4	7.6	8.4
IL-6 Serum	pg/ml	12.5	52.6	83	29.3	52.8	25
IL-6 Aszites	pg/ml	-	1095	940	705	1038	1113
IL-10 Serum	pg/ml	0.5	30.4	5	17	11	19
IL-10 Aszites	pg/ml	-	25.8	68	7	37.2	79.6

Tabelle16: Konzentrationsverläufe (Mediane) der Zytokine im Serum und Aszites in den ersten Tagen nach Lebertransplantation bei sechs Patienten mit Infektionen

		prä OP	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5
sTNF RII Serum	ng/ml	12.5	10.9	10.9	13.4	15.8	11.1
sTNF RII Aszites	ng/ml	-	8.65	10.4	11.5	13.5	12.6
IL-2 sRα Serum	ng/ml	8.1	6.1	14.2	8.9	9.45	6.1
IL-2 sRα Aszites	ng/ml	-	4.05	6.1	4.3	3.7	4.9
IL-1ra Serum	ng/ml	0.9	9.15	8.3	2.1	9.95	2.1
IL-1ra Aszites	ng/ml	-	9.35	34.4	1.6	2.9	6.45
HGF Serum	ng/ml	2.1	9.9	8.3	2.5	3	5.2
HGF Aszites	ng/ml	-	7.65	7.9	4.8	4.4	5.35
IL-15 Serum	pg/ml	4	3.2	3.2	4.1	4.35	3.5
IL-15 Aszites	pg/ml	-	4.4	4.5	6	5.7	6.05
IL-6 Serum	pg/ml	38	394	522	106	1540	102
IL-6 Aszites	pg/ml	-	2093	2719	1190	1050	799
IL-10 Serum	pg/ml	18.2	143	67.6	39.9	147	15.7
IL-10 Aszites	pg/ml	-	269	521	72	634	46

Tabelle 17: Konzentrationsverläufe (Mediane) der Zytokine im Serum und Aszites in den ersten Tagen nach Lebertransplantation bei vier Patienten mit initialer Nicht-Funktion

		prä OP	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5
sTNF RII Serum	ng/ml	13.2	9.2	12.8	13.9	12.9	11.6
sTNF RII Aszites	ng/ml	-	14.2	13	7.25	14	13.4
IL-2 sRα Serum	ng/ml	4.9	2.9	15	14.2	13.8	18.3
IL-2 sRα Aszites	ng/ml	-	8	7.9	3.2	14.2	12.9
IL-1ra Serum	ng/ml	0.94	17.5	16	17.1	15.5	8.6
IL-1ra Aszites	ng/ml	-	24.1	25.1	22.6	23.6	21.3
HGF Serum	ng/ml	3.6	5.25	5.7	1.7	3.8	3.9
HGF Aszites	ng/ml	-	14.6	12.1	8	12.9	14.9
IL-15 Serum	pg/ml	6	3.9	3.35	3.35	3.3	2.5
IL-15 Aszites	pg/ml	-	8.35	3.5	7.5	4.85	5.95
IL-6 Serum	pg/ml	12	732	160	1291	796	47.1
IL-6 Aszites	pg/ml	-	1070	1264	1247	1284	889
IL-10 Serum	pg/ml	5.2	153	824	95.2	73.9	16.9
IL-10 Aszites	pg/ml	-	633	828	351	90	258

Tabelle 18: Konzentrationsverläufe (Mediane) der Zytokine im Serum und Aszites in den ersten Tagen nach Lebertransplantation bei vier Patienten mit Multiorganversagen

3.5.1 Löslicher Tumor Nekrosefaktor Rezeptor II

In der Gruppe mit im Verlauf auftretender akuter Abstoßung war das zu messende Zytokin sTNF RII im Serum und Aszites in den ersten fünf Tagen nach LTX nicht auffällig verändert. In der Gruppe, die später eine Infektion bekamen, fiel in den ersten fünf Tagen nach LTX eine höhere Konzentration von sTNF RII (außer am dritten Tag nach LTX) im Aszites als im Serum auf. Diese Konzentrationsunterschied war aber nicht signifikant. Insgesamt war bei den Patienten mit einer Infektion sowohl im Serum als auch im Aszites kein signifikanter Konzentrationsanstieg oder –abfall von sTNF RII zu sehen. Es zeigte sich in der Gruppe mit einer INF bereits in den ersten Tagen nach LTX eine höher Konzentration von sTNF RII sowohl im Serum und Aszites als in den Gruppen mit akuter Abstoßung oder Infektion, wie in **Abbildung 3** dargestellt. Innerhalb der Patientengruppe mit einer INF waren höhere Konzentrationen im Serum als im Aszites zu messen. Bei Patienten mit im Verlauf auftretenden MOV, war die Konzentration von sTNF RII im Serum und Aszites höher als bei den Gruppen mit akuter Abstoßung und Infektion (siehe **Abbildung 3**). Dagegen zeigte sTNF RII zwischen den Gruppen mit MOV und INF sowohl im Serum als auch im Aszites keine Konzentrationsunterschiede. Beim Vergleich von Serum zu Aszites bei Patienten mit MOV, war im Serum einer höhere Konzentration von sTNF RII im Serum als im Aszites zu sehen.

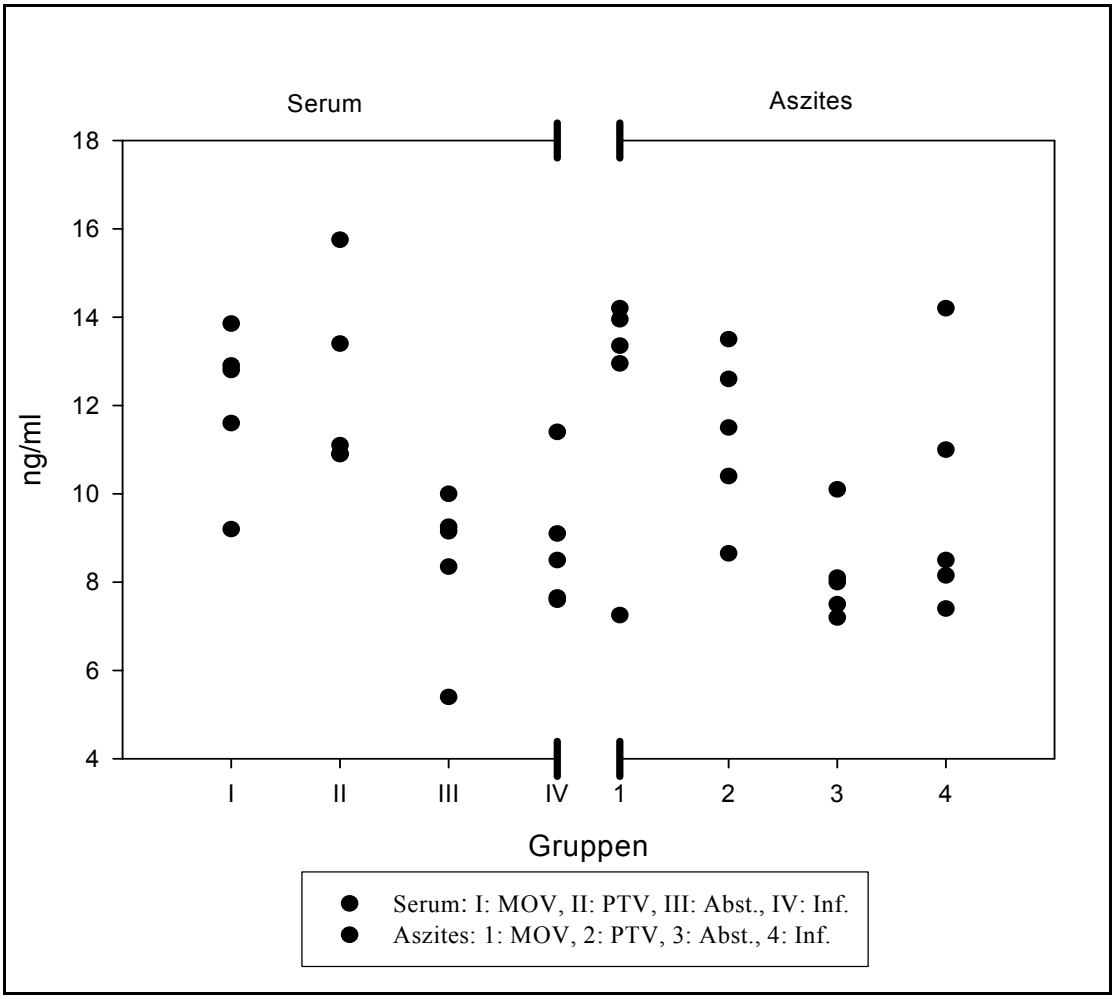


Abbildung 3: Vergleich der Konzentrationen (Mediane) von löslichen Tumor Nekrose Faktor Rezeptor II im Serum und Aszites bei Patienten mit akuter Abstoßung (n=9), Infektion (n=6), initiale Nicht-Funktion (n=4) und Multiorganversagen (n=4) in der frühen postoperativen Phase

3.5.2 Interleukin-2 löslicher Rezeptor alpha

In der Gruppe mit einer akuten Abstoßungsreaktion war im Serum eine erhöhte Konzentration an IL-2 sRα, wie in **Abbildung 4** dargestellt, gegenüber dem Aszites zu messen. Dieser Unterschied war nicht signifikant. Im Serum der Gruppe mit Abstoßung zeigte sich eine höhere Konzentration von IL-2 sRα als in der Gruppe mit Infektion, aber dieses Konzentrationsgefälle war ebenfalls nicht signifikant (siehe **Abbildung 4**). Es waren in der Gruppe mit INF im Serum und Aszites höhere Werte von IL-2 sRα als bei Patienten mit einer Abstoßung oder Infektion in den ersten fünf Tagen nach LTX zu eruieren. Innerhalb der Patientengruppe mit INF war IL-2 sRα im Serum in höherer Konzentration als im Aszites vorzufinden (siehe **Abbildung 4**). Bei Patienten mit im Verlauf auftretenden MOV war eine höhere Konzentration von IL-2 sRα im Aszites als bei den Gruppen mit Abstoßung und Infektion zu messen. Im Serum fiel bei der Gruppe mit MOV ein Konzentrationsanstieg von 2.9 ng/ml zu 14.95 ng/ml vom ersten Tag auf den zweiten postoperativen Tag auf. Die Patienten mit MOV hatten ab dem zweiten postoperativen Tag im Serum höhere Konzentrationen an IL-2 sRα als die Gruppen mit INF, Abstoßung und Infektion, wie in **Abbildung 4** dargestellt. Im Vergleich von Serum zum Aszites bei Patienten mit einem MOV war kein Konzentrationsunterschied zu erkennen.

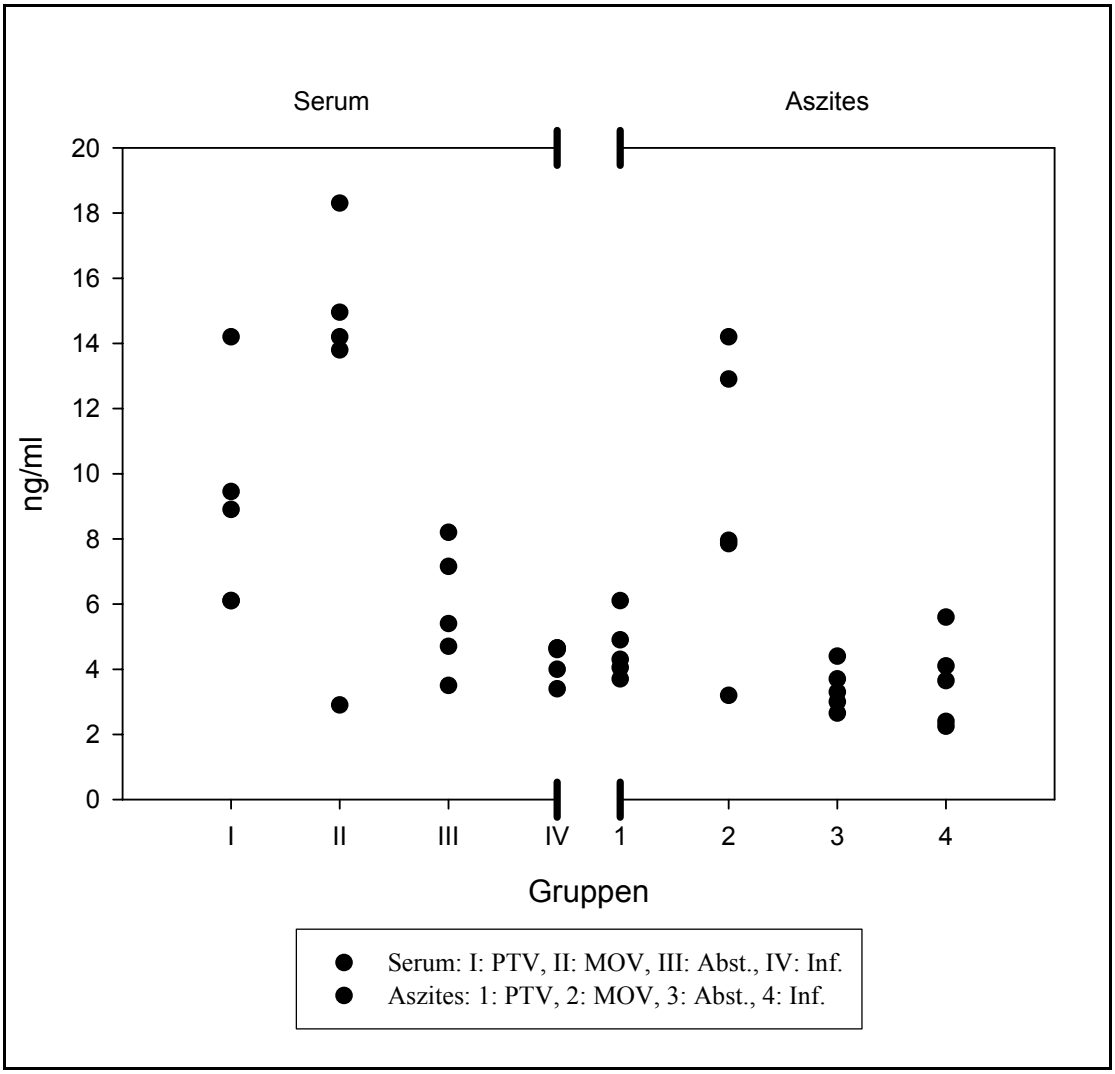


Abbildung 4: Vergleich der Konzentrationen (Mediane) von IL-2 löslicher Rezeptor alpha im Serum und Aszites bei Patienten mit akuter Abstoßung (n=9), Infektion (n=6), initiale Nicht-Funktion (n=4) und Multiorganversagen (n=4) in der frühen postoperativen Phase

3.5.3 Interleukin-1 Rezeptor Antagonist

In der Gruppe mit einer akuten Abstoßung war im Vergleich zu den Patienten mit einer Infektion in den ersten fünf Tagen nach LTX eine niedrigere Konzentration von IL-1ra im Serum und Aszites zu sehen, die aber nicht signifikant war. Innerhalb der Gruppe mit akuter Abstoßung als auch in der Gruppe mit Infektion war eine nicht signifikant erhöhte Konzentration an IL-1ra im Aszites zu der im Serum zu messen. Die Patienten mit einer INF zeigten im Aszites und Serum keinen Unterschied zu den Gruppen mit akuter Abstoßung und Infektion. Aber dafür war die Konzentration von IL-1ra in den ersten fünf Tagen im Serum und Aszites bei der Gruppe mit INF geringer als bei den Patienten mit einem MOV, wie in **Abbildung 5** dargestellt. Außerdem war die Konzentration von IL-1ra bei den Kindern mit MOV höher, sowohl im Serum als auch im Aszites zu messen, im Gegensatz zu den Patienten mit einer akuten Abstoßung oder Infektion. In der Differenzierung zwischen Serum und Aszites zeigte sich bei der Gruppe mit MOV eine höhere Konzentration an IL-1ra im Aszites.

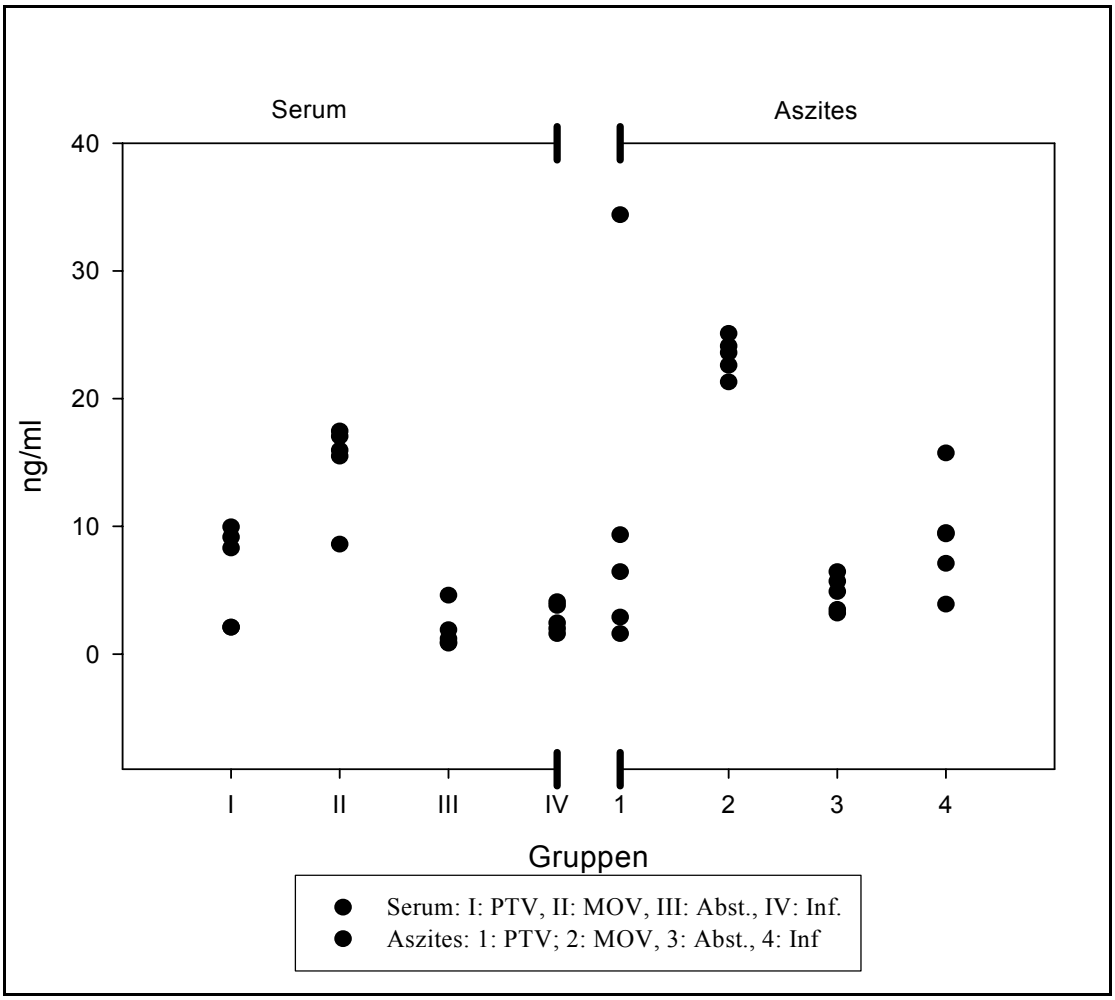


Abbildung 5: Vergleich der Konzentrationen (Mediane) von IL-1 Rezeptor Antagonist im Serum und Aszites bei Patienten mit akuter Abstoßung (n=9), Infektion (n=6), initiale Nicht-Funktion (n=4) und Multiorganversagen (n=4) in der frühen postoperativen Phase

3.5.4 Hepatozyten Wachstumsfaktor

Die Gruppe mit einer im Verlauf auftretenden akuten Abstoßung zeigte im Serum und Aszites in den ersten fünf Tagen nach LTX bei der Messung von HGF keinen Konzentrationsunterschied zu der Gruppe mit Infektion. Die HGF-Konzentration war im Vergleich von Aszites zu Serum ohne Unterschiede zu messen, sowohl in der Gruppe mit akuter Abstoßung als auch in der Gruppe mit Infektion. Bei Patienten mit INF war HGF im Aszites und Serum (außer am dritten Tag nach LTX) höher als in der Gruppe mit Abstoßung , wie in **Abbildung 6** dargestellt. Dagegen war zwischen den Gruppen mit INF und Infektion nur im Serum eine höhere Konzentration an HGF bei Patienten mit INF zu sehen. Bei der Gruppe mit MOV fiel im Aszites beim Vergleich zu den Gruppen mit akuter Abstoßung, Infektion und INF eine höhere Konzentration an HGF in den ersten fünf Tagen nach LTX auf, wie in **Abbildung 6** gezeigt wird. Im Serum war zwischen den Patienten mit MOV, akuter Abstoßung, Infektion und INF keine Konzentrationsunterschiede erkennbar. Die Patienten mit einem MOV hatten im Aszites einen höheren Gehalt an HGF als im Serum (siehe **Abbildung 6**).

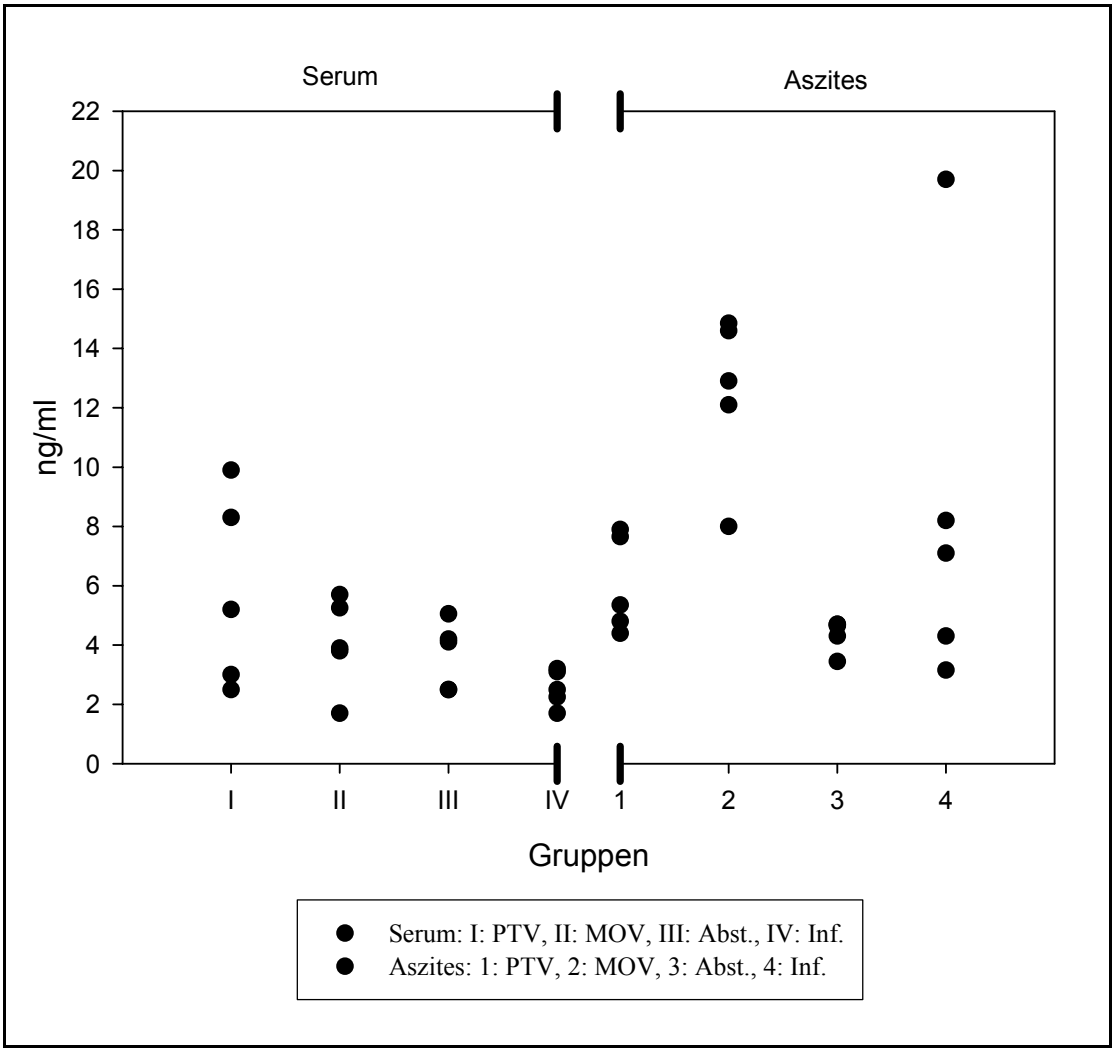


Abbildung 6: Vergleich der Konzentrationen (Mediane) von Hepatozyten Wachstumsfaktor im Serum und Aszites bei Patienten mit akuter Abstoßung (n=9), Infektion (n=6), initiale Nicht-Funktion (n=4), und Multiorganversagen (n=4) in den ersten fünf Tagen nach Lebertransplantation

3.5.5 Interleukin-15

In den ersten fünf Tagen nach LTX zeigte sich in der Gruppe mit akuter Abstoßung eine niedrigere Konzentration an IL-15 sowohl im Serum als auch im Aszites als in der Gruppe mit im Verlauf auftretender Infektion, wie in **Abbildung 7** dargestellt. Dieses Konzentrationsgefälle zwischen der Gruppe mit akuter Abstoßung und Infektion war im Serum am ersten und zweiten postoperativen Tag ($p<0.05$) und im Aszites am ersten Tag nach LTX signifikant ($p<0.05$). Bei den Patienten mit INF war im Serum eine höhere Konzentration an IL-15 in den ersten fünf Tagen nach LTX als bei der Gruppe mit akuter Abstoßung zu sehen. Im Vergleich zu den Patienten mit einer Infektion zeigte sich kein Unterschied. Es war in der Gruppe mit INF im Aszites eine niedrigere Konzentration an IL-15 zu messen, als bei der Gruppe mit Infektion. Die Gruppe mit akuter Abstoßung zeigte in der Konzentration von IL-15 im Aszites im Vergleich zu den Patienten mit INF keine Unterschiede. Die Gruppe mit MOV hatte im Serum höhere Konzentrationen an IL-15 als die Gruppe mit akuter Abstoßung. Die Werte waren aber mit denen der Patienten Infektion oder INF vergleichbar (siehe **Abbildung 7**). Die Konzentration von IL-15 im Aszites bei den Patienten mit einer im Verlauf auftretenden MOV unterschied sich nicht von der Konzentration von den Gruppen mit INF, Infektion oder Abstoßung.

In allen vier Gruppen war ein deutlicher Konzentrationsunterschied zwischen Serum und Aszites zu erkennen. Dabei war die Konzentration von IL-15 in der Gruppe mit akuter Abstoßung vom Aszites zum Serum signifikant erhöht ($p<0.05$). Bei den Patienten mit Infektion, INF und MOV war dieser Konzentrationsunterschied an IL-15 zwischen Aszites und Serum vorhanden, jedoch nicht signifikant (siehe **Abbildung 7**).

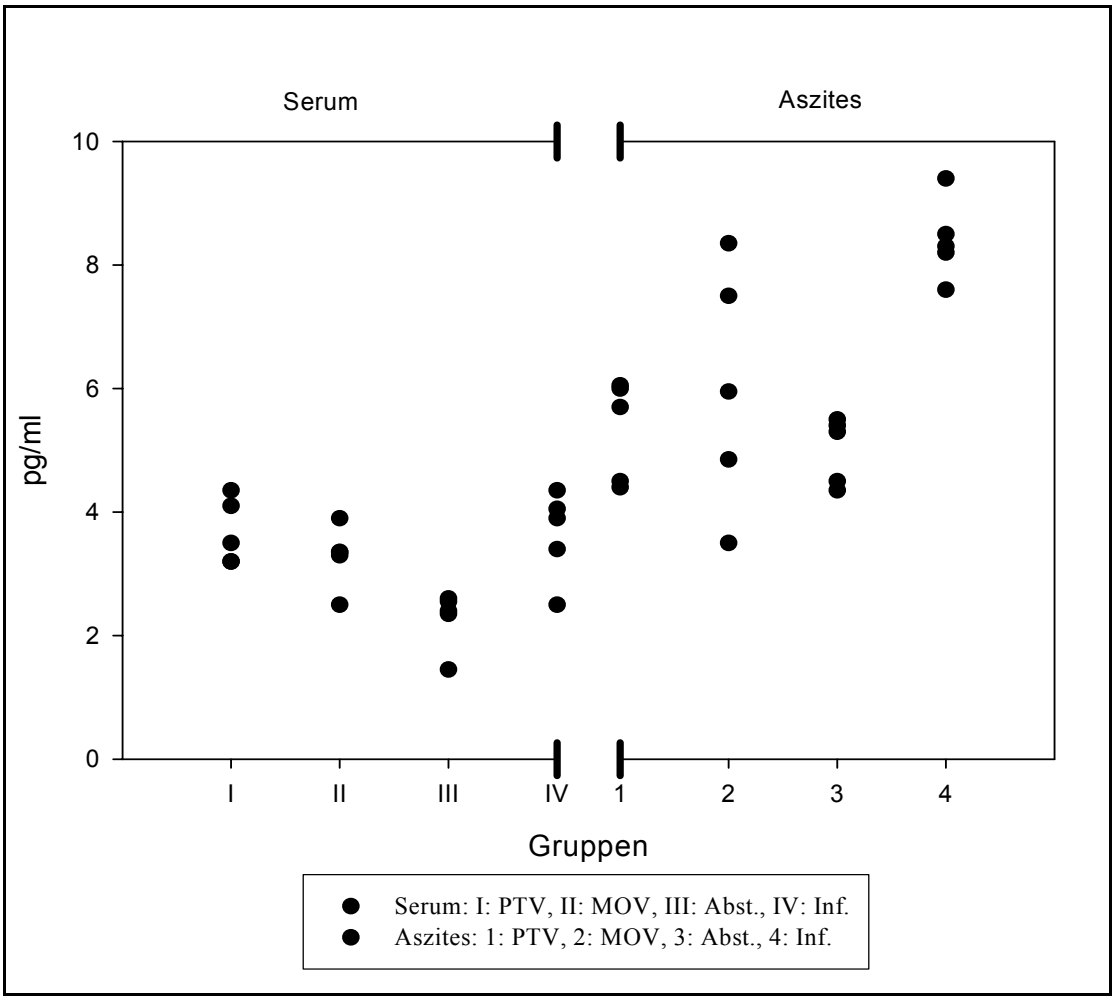


Abbildung 7: Vergleich der Konzentrationen (Mediane) von Interleukin-15 im Serum und Aszites bei Patienten mit akuter Abstoßung (n=9), Infektion (n=6), initiale Nicht-Funktion (n=4) und Multiorganversagen (n=4) in der frühen postoperativen Phase

3.5.6 Interleukin-6

Es war in den ersten fünf Tagen nach Lebertransplantation bei der Gruppe mit akuter Abstoßung kein Unterschied zu der Gruppe mit Infektion sowohl im Serum bezüglich der IL-6 Konzentration als auch im Aszites festzustellen, wie in **Abbildung 8** dargestellt. Die Patienten mit einer INF zeigten in den ersten vier Tagen nach LTX im Serum und Aszites höhere Konzentrationen als die Gruppen mit Infektion oder akuter Abstoßung (siehe **Abbildung 8**). In der Gruppe mit MOV fiel im Serum eine höhere Konzentration an IL-6 als bei den Patienten mit akuter Abstoßung und Infektion auf. Im Aszites war zwischen den Gruppen MOV, akuter Abstoßung und Infektion kein Konzentrationsunterschied an IL-6 zu sehen.
Die Gruppen mit akuter Abstoßung, Infektion, INF und MOV hatten im Aszites eine höhere Konzentration an IL-6 als im Serum. Dieses Konzentrationsgefälle von Aszites zu Serum war bei den Patienten mit akuter Abstoßung an vier Tagen nach LTX signifikant ($p<0.05$). Bei den Patienten mit Infektion war am zweiten und vierten postoperativen Tag die Konzentration an IL-6 im Aszites signifikant höher als im Serum ($p<0.05$). In den Gruppen mit INF und MOV war die erhöhte Konzentration an IL-6 im Aszites nicht signifikant verändert zu der im Serum.

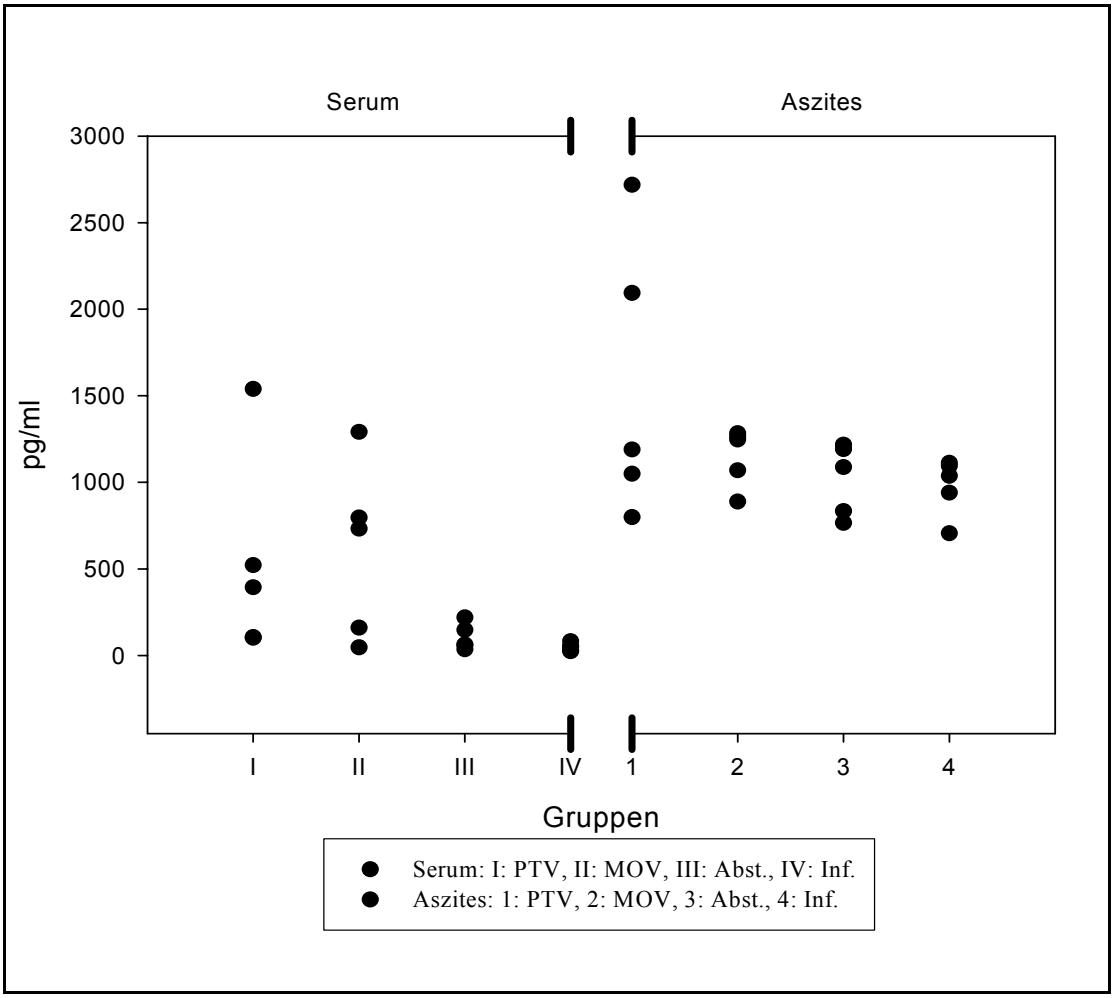


Abbildung 8: Vergleich der Konzentrationen (Mediane) von Interleukin-6 im Serum und Aszites bei Patienten mit akuter Abstoßung (n=9), Infektion (n=6), initiale Nicht-Funktion (n=4) und Multiorganversagen (n=4) in der frühen postoperativen Phase

3.5.7 Interleukin-10

Der Konzentrationsverlauf von IL-10 zeigte in der Gruppe mit akuter Abstoßung vom ersten postoperativen Tag zum zweiten Tag einem Abfall im Aszites (siehe **Tabelle 15**), der signifikant war ($p<0.05$). In den nächsten Tagen stieg die Konzentration von IL-10 im Aszites in der Gruppe mit akuter Abstoßung wieder an. Im Serum kam es bei diesen Patienten ab dem dritten postoperative Tag zu einem Konzentrationsanstieg, der signifikant war ($p<0.05$). Bei dieser Gruppe war ab dem zweiten Tag nach LTX die IL-10 Konzentration im Serum höher als im Aszites. In der Gruppe mit einer im Verlauf auftretenden Infektion war in den ersten fünf Tagen nach LTX im Serum und Aszites keine Besonderheit bei IL-10 zu entdecken. Bei den Patienten mit INF war die Konzentration von IL-10 in den ersten vier Tagen im Serum und Aszites höher als bei den Gruppen mit akuter Abstoßung und Infektion, siehe **Abbildung 9**. Die Patientengruppe mit MOV zeigte im Serum und Aszites in den ersten vier Tagen eine höhere Konzentration an IL-10 als die Patienten mit akuter Abstoßung und Infektion.

Im Vergleich der Konzentration an IL-10 von Serum zu Aszites zeigte sich bei den Gruppen mit einer INF und MOV, höhere Mengen im Aszites als im Serum, wie in **Abbildung 9** dargestellt. Der Konzentrationsunterschied zwischen Serum und Aszites war in diesen beiden Gruppen nicht signifikant.

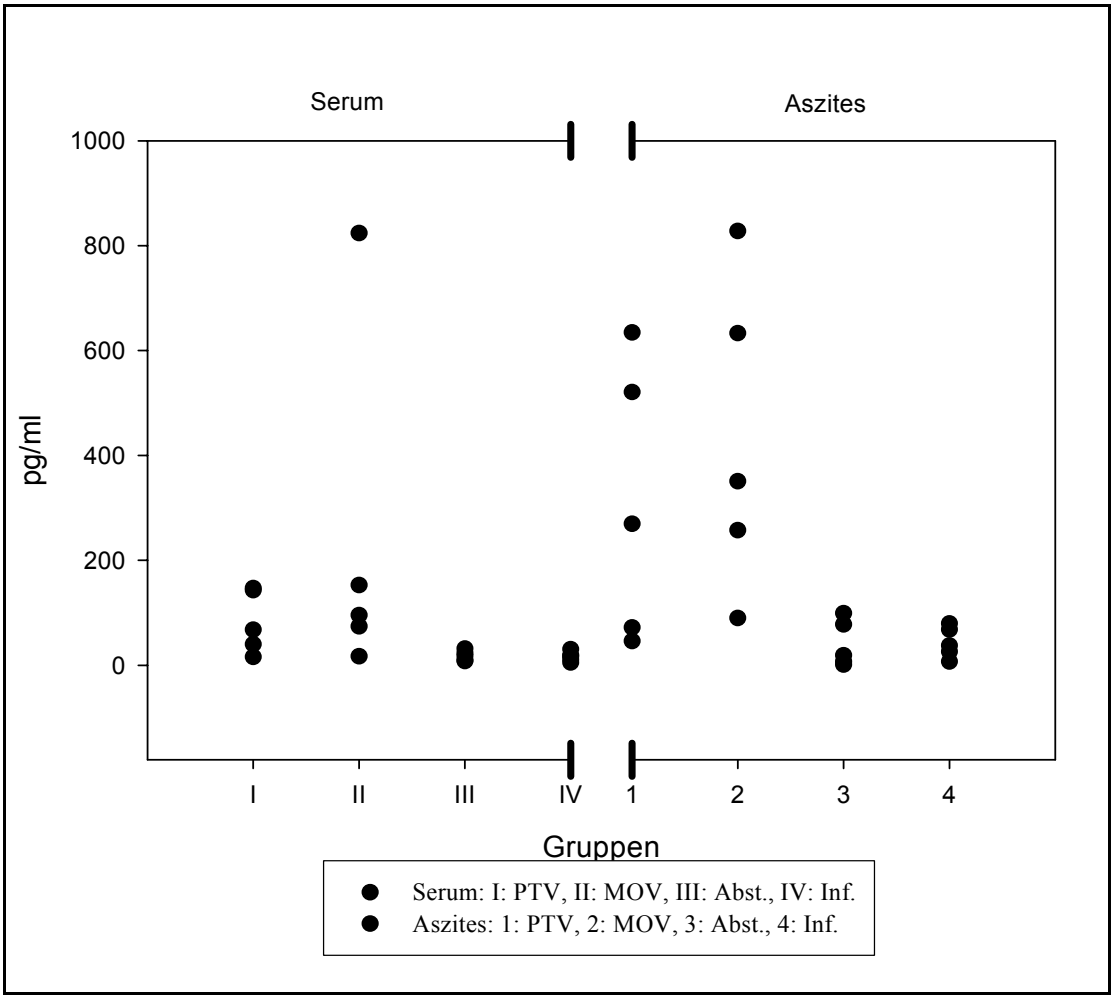


Abbildung 9: Vergleich der Konzentrationen (Mediane) von Interleukin-10 im Serum und Aszites bei Patienten mit akuter Abstoßung (n=9), Infektion (n=6), initiale Nicht-Funktion (n=4) und Multiorganversagen (n=4) in der ersten Tagen nach Lebertransplantation

4 Diskussion

Die Zeit während des Aufenthaltes auf der Intensivstation nach LTX ist entscheidend für das Ergebnis der Transplantation, da die meisten Komplikationen in dieser Zeit auftreten. Problematisch ist dabei, dass klinische Zeichen von Komplikationen bei Kindern unspezifisch sein können. Besonders Säuglinge zeigen bei auftretenden Komplikationen nach LTX häufig keine Symptome. Auch sind die laborchemischen Parameter nicht spezifisch für eine Komplikation nach LTX. Es kann zu einen Transaminasen- oder CRP-Anstieg sowohl bei einer akuten Abstoßung als auch bei Infektion, INF oder MOV kommen. Dabei war der Aszites, der bei fast jeder LTX vorhanden ist, ein bis jetzt nicht genutztes Medium zur laborchemischen Diagnostik nach LTX.

Aus diesen Gründen untersuchten wir verschiedene Zytokine im Serum und Aszites um zu sehen, ob eine postoperative Verlaufskontrolle anhand der Zytokine sinnvoll ist und ob dies differentialdiagnostischen Wert hat. Nachfolgend wird zunächst auf den Nachweis von Zytokinen im Aszites nach LTX eingegangen und ob diese mit der Konzentration im Serum korrelierten. Danach soll diskutiert werden, inwieweit die Zytokinkonzentration im Serum und Aszites die Art der Komplikation nach LTX widerspiegelt. Als letztes wird die Konzentration der Zytokine im Serum und Aszites in den ersten Tagen nach LTX als früher Hinweise für das Ergebnis der Transplantation erörtert.

4.1 Nachweis von Zytokinen im Aszites

Der Nachweis von Zytokinen im Serum nach LTX erfolgte schon von mehreren Arbeitsgruppen bei Erwachsenen (Mueller et al. 1996, Platz et al. 1996). Zwar konnte das Zytokin IL-6 bereits in der Galle und im Sekret abdominaler Drainagen bei Erwachsenen nach LTX nachgewiesen werden (Kunz et al. 1998). Aber der Aszites bei Kindern nach LTX wurde bis jetzt noch nicht auf verschieden Zytokine

untersucht. Des weiteren wurde auch nicht der Verlauf von verschiedenen Zytokinen im Aszites mit dem im Serum bei Kindern nach LTX verglichen.

In dieser Studie konnte erstmals IL-1ra, IL-2 sRα, IL-10, IL-15, IL-6, sTNF-RII und HGF im Aszites nach LTX bei Kindern nachgewiesen werden. Zusätzlich konnten wir belegen, dass die Konzentration der Zytokine im Aszites mit der Konzentration im Serum nach LTX signifikant korreliert.

Von Patienten mit spontaner bakterieller Peritonitis bei Leberzirrhose ließen sich im Aszites Zytokine nachweisen, die von peritonealen Makrophagen und mesothelialen Zellen produziert wurden (Pruimboom et al. 1994). Außerdem konnte im Aszites von Patienten mit Ovarial-Karzinom, außer einer hohen Konzentration an Zellen des Immunsystems (z. B. T-Zellen), auch Zytokine wie IL-1β und TNF-α nachgewiesen werden (Bac et al. 1995). In einer Untersuchung von Andus et al. (1992) wurde bei Patienten mit Tumor-assoziiertem Aszites und bei hepatischen Aszites eine signifikante Korrelation des Zytokins sTNF Rs im Plasma zu den sTNF Rs im Aszites beschrieben. In einer weiteren Studie von Navasa et al. (1998) zeigte sich eine signifikante Korrelation der Konzentrationen von TNF-α und IL-6 im Aszites zu der Konzentration im Serum bei Patienten mit einer Leberzirrhose.

Unsere Untersuchung zeigte, dass Zytokine im Aszites nach LTX vorhanden und mittels ELISA nachweisbar waren. Zusätzlich konnten wir feststellen, dass die Konzentration im Aszites signifikant mit der im Serum korrelierte. Dieses kann bedeuten, dass im Aszites Zytokine lokal produziert werden können. Eine Messung der Zytokine im Aszites könnte somit Hinweise auf lokale Reaktionen geben. Der Aszites ist bis jetzt ein nicht genutztes Material, dass nach LTX in den ersten Tagen fast immer über abdominale Drainagen zur Verfügung steht. Diese Tatsache ist besonders bei kleinen Kindern und Säuglingen wichtig, da diese ein geringeres Blutvolumen haben als Erwachsene, und auch bei Komplikationen weniger klinische Symptome zeigen können. Diese Arbeit zeigt, dass mit der Zytokinbestimmung im Aszites eine weitere laborchemische diagnostische Möglichkeit für die Kontrolle nach LTX bestehen könnte.

4.2 Zytokinverläufe während der Komplikationen nach Lebertransplantation

In mehreren Untersuchungen bei Erwachsenen nach LTX konnte gezeigt werden, dass Zytokine im Serum bei bestimmten Komplikationen anstiegen. So berichteten Conti et al. (2000) und Imagawa et al. (1990) über eine Konzentrationsveränderung von Zytokinen im Serum während einer akuten Abstoßung. Tilg et al. (1990) wiesen nach, dass Zytokine im Serum bei Infektionen nach LTX nicht differentialdiagnostisch wegweisend waren. Dagegen beschrieben Soulillou et al. (1993) eine Überproduktion von Zytokinen während der Infektion nach Transplantationen. Einige Gruppen untersuchten auch die Konzentration von Zytokinen in der Galle während der akuten Abstoßung nach LTX (Simpson et al. 1991, Kunz et al. 1998). Auch konnte Umeshita et al. (1996) den Anstieg von Zytokinen in der Galle während einer Cholangitis nachweisen.

Zu den selteneren Komplikationen, die wir in eine sonstige Gruppe zusammenfassten, traten in unserer Untersuchung die INF und das MOV am häufigsten auf. In der Gruppe mit den selten Komplikationen wurden keine chirurgische Komplikationen beobachtet. Es wurde bereits berichtet, dass einige Zytokine (u. a. IL-1β, IL-6) im Serum von Patienten mit tödlich verlaufenden Komplikationen nach LTX anstiegen (Platz et al. 1996, Kita et al. 1996). Dagegen berichteten Shirwan et al. (1999), dass höhere Konzentrationen von bestimmten Zytokinen (z. B. IL-10), die überwiegend von Th1-Zellen exprimiert werden, mit einer langen Überlebenszeit nach Transplantation assoziiert sind. Es ist bekannt, dass ein Anstieg des TNF mit einer INF im Zusammenhang steht (Oldhafer et al. 1999). Auch wurde von einer Beteiligung von Zytokinen wie TNF, IL-1 und IL-6 an einem MOV berichtet (Goris et al. 1985).

In den oben genannten Studien handelte es sich um Untersuchungen, die vorwiegend bei Erwachsenen nach LTX vorgenommen worden sind. Bis jetzt wurde keine Untersuchungen dieser Größe bei Kindern nach LTX durchgeführt. Der Aszites wurde bisher noch nicht auf verschieden Zytokinen nach LTX untersucht. Auch wurde noch nicht ein Vergleich nach LTX von Zytokine zwischen Serum zum Aszites angestellt. Wir konnten in dieser Studie zeigen, dass

Messungen von Zytokinen bei Kindern im Aszites oder Serum ein früher Hinweis auf Komplikationen nach LTX sein können.

4.2.1 Bedeutung von Zytokinen während der akuten Abstoßung

Während der akuten Abstoßungsreaktion zeigte IL-1ra im Aszites einen signifikanten Konzentrationsanstieg. Dieser Anstieg im Aszites setzte bereits 48 Stunden vor der akuten Abstoßung ein. Dagegen war die Messung von IL-1ra im Serum während der akuten Abstoßung relativ konstant. Bei Patienten während einer Infektion zeigte der Verlauf von IL-1ra sowohl im Serum als auch im Aszites hingegen keine Besonderheiten. Conti et al. (2000) zeigten, dass die IL-1ra Produktion bei steroid-sensibler Abstoßung erhöht war. Außerdem konnte nachgewiesen werden, dass die Expression von IL-1ra in der transplantierten Leber bei Erwachsenen während der Abstoßung erhöht ist im Vergleich zu Patienten ohne eine akute Abstoßung (Conti et al. 2000). Die entzündungshemmende Eigenschaften von sIL-1ra konnte im mehreren Studien (Conti et al. 2000) nachgewiesen werden, da es die Wirkung von IL-1 neutralisiert, indem es an den Rezeptor bindet ohne selbst eine Signaltransduktion zu induzieren. Antin et al. (1994) konnten nachweisen, dass IL-1 ein Vermittler der akuten Abstoßung nach Transplantationen ist, da es eine zentrale Rolle bei der T-Zell Aktivierung spielt. In einer Untersuchung von Conti et al. (2000) zeigte sich, dass während der Abstoßung nach LTX die hepatische Produktion an sIL-1ra, durch die vermehrte Stimulation lokaler Zytokine erhöht war. Der Anstieg von sIL-1ra im Aszites bereits 48 Stunden vor der Abstoßung in dieser Studie, ist als frühe lokale Reaktion von IL-1ra auf die Abstoßungsreaktion zu verstehen.

Am Tag der akuten Abstoßung kam es bei IL-10 im Aszites zu einem Konzentrationsanstieg, während der Konzentrationsverlauf im Serum keine eindeutige Tendenz erkennen ließ. Dagegen war während der Infektion ein Konzentrationsabfall von IL-10 im Serum zu messen, wobei die Konzentration im Aszites konstant blieb. Platz et al. (1993) konnten einen signifikanten Anstieg von IL-10 im Serum bei Patienten mit akuter Abstoßung nach LTX nachweisen. Allerdings zeigten Straehler et al. (1997) in einer Untersuchung bei Patienten nach

Herztransplantation, dass IL-10 sich für eine Verlaufskontrolle nicht eignet, da es während der akuten Abstoßung nicht zu einem Anstieg von IL-10 im Serum kam. Shirwan et al. (1999) zeigten bei Patienten mit einem Langzeitüberleben der Transplantate eine erhöhte Expression von Th2-Zellen Zytokinen, wie u. a. IL-10. Auch Moore et al. (2001) beschrieben IL-10 als ein wichtiges antientzündlich und immunsuppressiv wirkendes Zytokin, indem es die Aktivität der Makrophagen unterdrückt. Dass die Konzentration von IL-10 während der akuten Abstoßung in unserer Studie vor allem im Aszites ansteigt, ist am ehesten durch eine lokale Reaktion während der Abstoßung zu erklären. Die vermehrte Produktion kann als eine entzündungshemmende Antwort auf die Reaktion während der akuten Abstoßung interpretiert werden.

Der Konzentrationsverlauf von IL-6 war in unseren Messungen während der akuten Abstoßung im Aszites signifikant höher als im Serum. Es konnte in anderen Studien bereits eine Beteiligung von IL-6 an der akuten Abstoßung nachgewiesen werden. Indem IL-6 sowohl die humorale als auch die zelluläre Immunabwehr aktiviert (Heinrich et al. 1990). Auch Kunz et al. (1998) konnten nachweisen, dass IL-6 ein lokal produziertes und akkumulierendes Zytokin nach LTX bei Erwachsenen ist. Sie zeigten, dass die Konzentrationsverläufe in abdominaler Flüssigkeiten von lokalen entzündlichen Reaktionen abhingen. In einer Untersuchung bei Patienten nach LTX konnten Umeshita et al. (1996) eine erhöhte Konzentration von IL-6 in der Galle während der akuten Abstoßung feststellen. Allerdings wurde in der gleichen Untersuchung auch gezeigt, dass die Konzentration von IL-6 im Serum bei anderen Komplikationen ebenfalls erhöht war. Dass IL-6 in unseren Messungen im Aszites in hoher Konzentration vorzufinden war, spricht für eine lokale Produktion, hervorgerufen durch einen inflammatorischen Reiz. Dabei ist zu berücksichtigen, dass die Konzentration von IL-6 im Aszites auch während der Infektion anstieg.

In unseren Messungen von IL-15 fiel während der akuten Abstoßung eine signifikante erhöhte Konzentration im Aszites verglichen mit der im Serum auf. Aber auch während der Infektion war die Konzentration von IL-15 im Aszites signifikant erhöht verglichen mit der im Serum. IL-15 ist ein Zytokin, dass vor allem von Makrophagen produziert wird. Die biologische Aktivität von IL-15 ist der von

IL-2 sehr ähnlich, indem es stimulierend auf die Proliferation von T-Zellen und B-Zellen wirkt. Baan et al. (1998) konnten in Leber-Biopsaten nach LTX eine erhöhte mRNA Expression von IL-15 nachweisen. Diese lokale Produktion könnte in unserer Untersuchung für die erhöhte Konzentration im Aszites während der akuten Abstoßung verantwortlich sein.

Im Gegensatz zu den bisher besprochen Zytokinen zeigte IL-2 sRα während der akuten Abstoßung eine erhöhte Konzentration im Serum. Mehrere Studien publizierten, dass IL-2 die Proliferation von T-Zellen während der akuten Abstoßung über einen spezifischen Rezeptor fördert (Langrehr et al. 1997). In früheren Untersuchung konnte nachgewiesen werden, daß der Konzentrationsverlauf von IL-2 sRα im Serum und in der Galle bei einer akuten Abstoßung nach LTX zur Diagnosefindung nützlich war (Adams et al. 1989). Platz et al. (1993) konnten bereits drei Tage vor der Abstoßung eine erhöhte Konzentration von sIL-2R im Serum bei Patienten nach LTX nachweisen. Der Konzentrationsanstieg von IL-2 sRα im Serum spricht für eine systemische Entzündungsreaktion während der akuten Abstoßung.

In dieser Studie zeigten die Konzentrationsverläufe von HGF und sTNF RII im Serum und Aszites keine eindeutigen Konzentrationsanstiege oder –abfälle während der akuten Abstoßung. In einer Untersuchung von Tilg et al. (1990) konnte gezeigt werden, dass TNF im Serum unspezifisch bei entzündlichen Reaktionen nach LTX ansteigt, ohne zwischen einer Abstoßung oder Infektion unterscheiden zu können. Vergleichbare Ergebnisse waren auch in einer Untersuchung von Platz et al. (1993) über sTNF RII im Serum bei Patienten nach LTX zu sehen. Hier zeigte sich ein Anstieg von sTNF RII im Serum drei Tage vor einer Abstoßung, aber auch bei einer Infektion. Dagegen erwies sich TNF im Serum in einer Untersuchung nach Herztransplantation nicht als ein differentialdiagnostisch sinnvoller Parameter (Staehler et al. 1997). Auch in einer Untersuchung von Leeuwenberg et al. (1995) ließ sich kein Anstieg der Konzentration von sTNF R im Serum während der Abstoßungsreaktion nach Herztransplantation nachweisen. Die Ergebnisse dieser Studien unterstützen unseren Befund, dass der Verlauf von sTNF RII während der Abstoßung im

Aszites und Serum eher unspezifisch ist und keine Rückschlüsse auf eine akute Abstoßung zulässt.

Wie bereits oben erwähnt, war auch der Konzentrationsverlauf von HGF während der Abstoßung im Serum und Aszites in unserer Untersuchung unspezifisch. Die Funktion von HGF als hepatotropher Faktor ist gut bekannt (Boros et al.1995). In einer Studie von Takada et al. (1996) fanden sich erhöhte Konzentrationen von HGF im Serum während der Abstoßung nach Nierentransplantation. Eine weitere Untersuchung von Yamaguchi et al. (1996) zeigte, dass sich mRNA bei Patienten mit einer Abstoßung nach Nierentransplantation nachweisen läßt. Diese kontroversen Ergebnisse zu unseren Ergebnissen lassen sich mit der geringen Patientenzahl in beiden Studien erklären. Außerdem zeigten Takada et al. (1996) während der Abstoßung erhöhte Kreatinin- und Harnstoffwerte. Insofern liegt die Vermutung nahe, dass damit auch die Clearance von HGF während der Abstoßung nach Nierentransplantation vermindert war. Da in unserer Untersuchung die Patienten mit Abstoßung nach LTX keine verminderte Nierenfunktion hatten, ist auch der konstante Verlauf von HGF in dieser Phase nachvollziehbar.

Im postoperativen Verlauf nach LTX war die Messung von IL-1ra im Aszites am auffälligsten, da die Konzentration von IL-1ra schon 48 Stunden vor der akuten Abstoßung signifikant Anstieg im Aszites. Damit ist IL-1ra im Aszites ein wichtiger Verlaufsparameter für Komplikationen nach LTX bei Kindern. Denn der frühe Konzentrationsanstieg von IL-1ra im Aszites kann ein differentialdiagnostischer Hinweis auf eine akute Abstoßung sein. Die Messungen von IL-10 im Aszites und IL-2 sRα im Serum zeigten ebenfalls einen Konzentrationsanstieg. Damit können zusätzliche Messung von IL-10 im Aszites und IL-2 sRα im Serum für die Diagnostik der akuten Abstoßung hilfreich sein. Dagegen ist die Messung von IL-15 und IL-6 eher unspezifisch, da beide Zytokine sowohl bei der akuten Abstoßung als auch bei Infektionen im Aszites ansteigen. Die Zytokine HGF und sTNF RII hatten keine differentialsdiagnostische Bedeutung.

4.2.2 Bedeutung von Zytokinen während der Infektionen

Der Konzentrationsverlauf von IL-6 zeigte während der Infektion signifikant erhöhte Werte im Aszites zum Serum. Bakterien stimulieren Makrophagen und Monozyten zur Produktion von IL-6. IL-6 wiederum führt zu einer Synthese von Proteinen der akuten Phase in Hepatozyten (Janeway und Travers 1997). Während viraler oder bakteriellen Infektionen des ZNS oder Arthritiden konnte IL-6 in zerebraler Flüssigkeit bzw. in der Synovia nachgewiesen werden (Heinrich et al. 1990). Von Bac et al. (1995) wurde berichtet, dass sich im Aszites erhöhte IL-6 Konzentrationen verglichen mit dem Serum, bei Patienten mit abdominalen Exsudat unterschiedlicher Genese, nachweisen ließen. Zusätzlich war bei Patienten mit einer bakteriellen Entzündung noch höhere IL-6 Konzentrationen im Aszites zu messen. Sakamoto et al. (1994) konnten im abdominalen Exsudat die mRNA von IL-6 in Leukozyten nach chirurgischen abdominalen Eingriffen nachweisen. Verschiedene Studien zeigten, dass auch Endothelzellen in der Leber und auch Kupffer-Zellen IL-6 produzieren (Aarden et al. 1991, Kita et al. 1996). Diese Ergebnisse und unserer Messwerte weise daraufhin, dass IL-6 lokal produziert wird.

In unserer Studie stieg die IL-15 Konzentration im Aszites signifikant während der Infektion an. Mehrere Autoren beschrieben IL-15 in einem Zusammenhang mit Erkrankungen, die mit einer Infiltration von Monozyten assoziiert sind, wie z. B. rheumatoide Arthritis (McInnes et al. 1996) und Immunantworten auf Infektionen (Carson u. Caligiuri 1996). Baan et al. (1999) zeigten bei Patienten nach Herztransplantation, dass eine große Anzahl von IL-15 positiven Zellen das Herz infiltrieren. Wie bereits vorher erwähnt konnten Baan et al (1998) eine signifikant erhöhte Expression der mRNA von IL-15 in Leberbiopsien nach LTX gegenüber von Biopsien von nicht transplantierten Lebern nachweisen. Dabei war die Expression unabhängig vom klinischen Verlauf. Auch in unseren Messungen waren sowohl bei der Abstoßung als auch bei der Infektion erhöhte Konzentrationen im Aszites zu finden.

Es zeigte sich bei der Messung von IL-10, dass es im Serum zu einem Konzentrationsabfall während der Infektion kommt, aber die Konzentration im

Aszites relativ konstant bleibt. In einer Untersuchung von Moore et al. (1993) konnte gezeigt werden, dass IL-10 die Makrophagenfunktion inhibiert, indem es die Produktion verschiedener von Makrophagen abgeleiteten entzündlichen Proteinen hemmt. Zusätzlich wird die Synthese von Th1-Zell-Zytokinen inhibiert (Wissing et al. 1994). Eine erniedrigte Konzentration an IL-10 im Serum, wie in unserer Untersuchung, kann somit zu einer erfolgreicheren Immunabwehr beitragen, da die Makrophagenfunktion und die Zytokinproduktion weniger gehemmt wird.

Die erhoben Daten zu HGF im Serum und Aszites zeigten keine eindeutigen Konzentrationsverläufe während der Infektion. In verschiedenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass HGF auf Verletzungen der Leber reagiert (Michalopoulos et al. 1992, Ishiki et al. 1992). Damit kann der unspezifische Verlauf von HGF im Serum und Aszites während der Infektion, bei der es nicht zu einer direkten Schädigung der Leber kommt, erklärt werden.

In dieser Studie konnte für sTNF RII während der Infektion keine Konzentrationsveränderung im Serum und Aszites nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu zeigte eine Untersuchung von Andus et al. (1992), erhöhte Konzentrationen von sTNF RII bei Infektionen im Aszites und Serum bei Patienten mit hepatisch bedingtem Aszites. Aber gleichzeitig wurde in dieser Studie eine erhöhte Konzentration von sTNF RII bei Patienten mit tumorassoziiertem Aszites gezeigt. Damit scheint die Konzentrationserhöhung von sTNF RII eher unspezifisch zu sein. In einer Studie von Platz et al. (1993) konnte zwar ein Anstieg von sTNF RII drei Tage vor einer Infektion im Serum bei Patienten nach LTX nachgewiesen werden, aber wie oben bereits erwähnt war auch ein Anstieg im Serum bei akuter Abstoßung zu sehen.

Der Konzentrationsverlauf von IL-2 sRα im Serum und Aszites zeigte während der Infektion keinen besonderen Abfall oder Anstieg an. In der bereits weiter oben erwähnten Studie von Platz el al. (1993) fanden sich erhöhte Konzentrationen an IL-2 sRα im Serum während einer Infektion nach LTX. Diese Patienten hatten allerdings auch gleichzeitig eine steroid-resistente Abstoßungsreaktion. Da in der gleichen Untersuchung gezeigt wurde, dass sIL-2 R während der Abstoßung im

Serum erhöht ist, kann die Konzentrationserhöhung während der Infektion durch die gleichzeitige Abstoßungsreaktion zustande kommen. Unsere Ergebnisse zeigten, dass IL-2 sRα für die frühzeitige Erkennung einer Infektion nach LTX nicht verwendbar ist.

Im Rahmen unserer Untersuchungen fiel auf, dass der Verlauf von IL-1ra im Serum und Aszites während der Infektion unauffällig war. In einer Studie von Rodriguez-Ramos et al. (2001) konnten erhöhte Konzentrationen im Aszites bei spontaner bakterieller Peritonitis nachgewiesen werden. Dabei handelte es sich allerdings um Patienten mit einer Leberzirrhose. Bei diesen Patienten muss davon ausgegangen werden, dass die Funktion der Leber vermindert ist im Gegensatz zu unseren Patientenkollektiv und damit die erhöhte Konzentration an IL-1ra im Aszites bei Patienten mit Leberzirrhose viele verschieden Ursachen haben kann. Denn unter anderem ist die Leber eins der wichtigsten Organe für die Clearance von Zytokinen (Van Deventer et al. 1990).

Während der Infektion zeigt keines der gemessenen Zytokine einen eindeutigen Verlauf, weder im Serum noch im Aszites. Das einzige Zytokin, dass eine Tendenz erkennen ließ war IL-10, bei dem es zu einem Konzentrationsabfall im Serum kam. Damit könnte eine Messung von IL-10 im Serum nach LTX für den Verlauf sinnvoll sein. Eventuell sollte eine größere Patientengruppe auf IL-10 im Serum nach LTX untersucht werden, um ein statistisch signifikante Effekte nachweisen zu können. Auch fiel bei IL-6 und IL-15 während der Infektion ein Konzentrationsanstieg im Aszites auf. Da diese beiden Zytokine aber auch während der akuten Abstoßung im Aszites anstiegen, können diese Anstiege als unspezifische lokale Reaktion auf Entzündung interpretiert werden. Die Zytokinkonzentrationen für IL-1ra, IL-2 sRα, sTNF RII und HGF im Serum und Aszites nach LTX hatten keine differentialdiagnostische Bedeutung.

4.2.3 Bedeutung von Zytokinen während der initialen Nicht-Funktion oder des Multiorganversagens

In dieser Arbeit zeigte sich bei Patienten mit initialer Nicht-Funktion eine erhöhte Konzentration von IL-6 im Serum. Nach einer erneuten Transplantation fiel die IL-6 Konzentration wieder deutlich ab. Umeshita et al. (1996) konnte eine unspezifische Erhöhung von IL-6 im Serum bei Komplikationen nach LTX nachweisen. In der gleichen Arbeit wurde auch gezeigt, dass es in der Galle bei Dysfunktionen der Leber nicht zu einem Anstieg von IL-6 kam. Es ist bekannt, das IL-6 bei Verletzungen des Lebergewebes und bei Infektionen ansteigt (Tilg et al. 1992). Das Hauptzielorgan von IL-6 ist die Leber und IL-6 ist das Schlüsselzytokin der Akuten-Phase-Antwort. Der IL-6 Konzentrationsanstieg kann als eine unspezifische Reaktion des Körpers auf das primäre Transplantatversagens verstanden werden. Besonders wenn die Mechanismen der Leber ausbleiben, die ansonsten von IL-6 hervorgerufen werden.
Außerdem konnten wir beobachten, dass im Serum und Aszites bei Patienten mit einem MOV erhöhte Konzentrationen an IL-6 zu messen waren. In einer Studie von Goris et al. (1985) wurde berichtet, dass u. a. auch IL-6 zusammen mit IL-1 und TNF an der Vermittlung eines MOV beteiligt ist. Eine Untersuchung von Borrelli et al. (1996) wies auf eine höhere Mortalitätsrate bei erhöhten Konzentrationen von IL-6 im Plasma hin. Im Aszites bei Säuglingen mit einer nekrotisierenden Enterokolitis konnten erhöhte Konzentrationen von IL-6 nachgewiesen werden (Birk et al. 1994). Auch konnten eine erhöhte Inzidenz an Nierenversagen bei Patienten mit einer Leberzirrhose festgestellt werden, wenn diese höhere Konzentrationen an IL-6 im Aszites hatten (Navasa et al. 1998). Wie schon weiter oben erwähnt, ist IL-6 ein Zytokin, dass bei lokaler Entzündung verschiedener Genese ansteigt. Es zeigte sich in unserer Studie, dass IL-6 bei INF und MOV nicht nur im Aszites sondern auch im Serum ansteigt.

In unserer Studie zeigte sich bei Patienten mit einer INF vor der erneuten LTX im Serum und Aszites keine besonderen Verläufe von HGF. Allerdings fiel nach der zweiten LTX ein Konzentrationsanstieg von HGF im Aszites auf. Auch bei Patienten mit MOV maßen wir sowohl im Serum als auch im Aszites erhöhte Konzentrationen von HGF. In einer Studie von Boros et al. (1995) wurden erhöhte

Konzentrationen von HGF im Serum nach Hepatektomie, bei verschiedenen Lebererkrankungen und bei fulminanten Leberversagen gefunden. Dieses lässt darauf schließen, daß eine Erhöhung der Konzentration von HGF eher auf eine Dysfunktion der Leber zurückzuführen ist als auf eine aktiven Prozess der Regeneration (Boros et al. 1995). Normalerweise ist die Leber für die Clearance von HGF verantwortlich, deshalb kommt es nach Kontakt mit hepatotoxischen Substanzen oder nach Resektion der Leber schnell zu einer erhöhten Konzentration von HGF im Serum (Boros et al. 1995). Zusätzlich konnte in unserer Arbeit gezeigt werden, dass es außer im Serum auch im Aszites zu einem Konzentrationsanstieg kommt. Dieses Ergebnis unterstützt die These, dass es zu einem Anstieg von HGF aufgrund der mangelnden Clearance kommt. Es konnte gezeigt werden, dass es durch die mangelnde Clearance zu einer hohen Konzentrationen an HGF und damit eine Initiierung des Regenerationsprozesses erreicht werden konnte (Michalopoupolos u. Zarnegav 1992). Weitere Studien berichteten über eine regenerierende Funktion des HGF nicht nur des Lebergewebes, sondern auch bei der Niere (Nagaike et al. 1991), der Lunge (Yanagita et al. 1993) und dem Skelettmuskel (Jennische et al. 1993). Dies könnte erklären, weshalb es in unserer Studie während des MOV nicht nur im Aszites zu einem Anstieg kam, sondern auch im Serum. Da beim MOV der gesamte Organismus betroffen ist, scheint der Anstieg von HGF im Serum ein Versuch zu sein auch anderer Organe zu regenerieren. Dagegen kommt es bei Patienten mit INF erst nach der erneuten Transplantation zu einem Anstieg von HGF, damit die neue Leber sich regenerieren kann.

Während der INF maßen wir bei IL-10 sowohl im Serum als auch im Aszites keine Unterschiede. Dagegen fiel bei den Untersuchungen während des MOV eine erhöhte Konzentration von IL-10 im Aszites auf. Platz et al. (1993) berichteten über einen Anstieg von IL-10 als ein Indiz für die Letalität bei Infektionen nach LTX. Da der Konzentrationsanstieg von IL-10 besonders ausgeprägt war im Aszites, spricht dies am ehesten für eine lokale Produktion während des Multiorganversagens. Moore et al. (2001) konnten eine Sekretion von IL-10 aus Makrophagen, B- und T-Lymphozyten nachweisen. Das sich während der INF keine Differenzierungen von IL-10 sowohl im Aszites als auch im Serum zeigten, ist vereinbar mit den Ergebnissen von Straehler et al. (1997). In deren Arbeit

wurde nachgewiesen, dass IL-10 keine Verlaufskontrolle bei Patienten nach Herztransplantation zulässt. In einer weiteren Studie von Straehler et al. (1997) wurde außerdem postuliert, dass IL-10 im Serum bei Patienten nach LTX keine differentialdiagnostische Bedeutung hatte.

Das Zytokin IL-2 sRα zeigte in unseren Messungen während der INF keinen spezifischen Konzentrationsverlauf, weder im Serum noch im Aszites. Dagegen konnten wir eine erhöhte Konzentration von IL-2 sRα im Serum und Aszites während des MOV messen. Das Zytokin IL-2 sRα ist die lösliche Form von IL-2 Rα und wird von aktivierten T-Zellen sezerniert (Elg et al. 1997). Obwohl dieses Zytokin die beschnittene Form des in der Membran sitzenden Rezeptors ist, hat es die gleiche Bindungsaffinität zu IL-2. IL-2 fördert die Differenzierung und klonale Expansion von aktivierten T-Zellen und die Entwicklung von zytotoxischen T-Zellen (Theze et al. 1996). Durch den IL-2/IL-2R-Komplex wird die T-Zell Antwort auf das Spenderorgan reguliert (Baan et al. 1999). Elg et al. (1997) zeigten, dass eine erhöhte Konzentration von IL-2 sRα eine lokale Immunantwort negativ beeinflussen kann, indem die lösliche Form mit IL-2 um die Bindung am Rezeptor konkurriert. Die vermehrte Expression von IL-2 sRα kann zu einer verminderten Lymphozytenaktivierung führen und könnte damit zu einem MOV nach LTX durch verminderte Immunkompetenz beitragen. In unseren Messungen war IL-2 sRα im Aszites während des MOV erhöht. Das spricht für eine lokale Produktion. Bereits Adams et al. (1988) konnten IL-2 sRα in der Galle nachweisen.

Die IL-1ra Konzentration im Serum und Aszites während der INF wies keine besonderen Anstiege oder Abfälle auf. Dagegen war während des MOV eine abnehmende IL-1ra Konzentration im Serum und Aszites zu messen. Wie bereits oben erwähnt, ist IL-1ra ein antientzündlich wirkendes Protein. Bei Patienten mit MOV könnte eine verminderte Expression von IL-1ra durch Wegfall seiner protektiven Wirkung mit zu einem MOV beitragen.

Für die IL-15 Konzentration während der INF war sowohl im Aszites als auch im Serum keine eindeutigen Verläufe zu beobachten. Außerdem zeigten sich auch während des MOV im Serum und Aszites keine signifikanten Ergebnisse.

Des weiteren konnte im Serum und Aszites während der INF keine wesentlichen Veränderungen beim Konzentrationsverlauf von sTNF RII nachgewiesen werden. Während des MOV fiel im Serum eine höhere sTNF RII Konzentration als im Aszites auf. Auch ist die Konzentration von sTNF RII im Serum höher als während der Abstoßung oder Infektion. Diese Ergebnisse könnten mit einer verminderten Nieren-Clearance in Zusammenhang stehen, denn in der Studie von Leeuwenberg et al. (1995) zeigte sich, dass sTNF RII bei Patienten mit einer Abstoßung und Niereninsuffizienz nach Nierentransplantation im Serum erhöhte Konzentrationen hatten. Das lässt darauf schließen, dass sTNF RII von der Niere ausgeschieden wird. Da bei einem Multiorganversagen nach LTX auch die Nierenfunktion beeinträchtig ist, könnte dies die erhöhte Konzentration an sTNF RII im Serum beim MOV nach LTX in unserem Patientenkollektiv erklären.

Während der INF zeigten fast alle Zytokine keine eindeutigen Konzentrationsverläufe weder im Serum noch im Aszites. Das einzige Zytokin das auffiel war IL-6 im Serum während der INF. Bei IL-6 maßen wir eine erhöhte Konzentration im Serum während der INF. Allerdings beobachteten wir während der akuten Abstoßung oder Infektion im Serum keine Konzentrationsanstiege. Dagegen zeigte IL-6 während des akuten Abstoßung und Infektion erhöhte Konzentrationen im Aszites, aber nicht im Serum. Eine Messung von IL-6 im Serum kann somit differentialdiagnostische Hinweise nach LTX geben, im Hinblick auf eine INF.

Die Untersuchungen während des MOV zeigten, dass Messungen des Verlaufs der Konzentrationen von sTNF RII im Serum, von IL-10 im Aszites, sowie IL-2 sRα und IL-6 im Serum und Aszites sinnvoll sein können. Denn bei diesen Zytokinen kam es während des MOV zu starken Konzentrationsanstiegen, die über den Messungen während der akuten Abstoßung und Infektion lagen. Damit kann die Messung der Zytokine sTNF RII im Serum, IL-10 im Aszites, IL-2 sRα und IL-6 sowohl im Serum als auch im Aszites wichtig für die Diagnostik nach LTX sein.

4.3 Verlauf einzelner Zytokine in der frühen postoperativen Phase

Die meisten Komplikationen nach LTX treten in den ersten Tagen nach der Operation auf. Cuerva et al. (1986) berichteten, dass die Mortalität innerhalb der ersten Woche am größten ist. Sie konnten zeigen, dass mehr als 70% aller Todesfälle in der ersten Woche nach LTX auftraten. Es ist bekannt, dass alleine schon chirurgische Eingriffe die Konzentration von Zytokinen beeinflussen können (Sakamoto et al. 1994), und das nicht nur im Serum, sondern auch im Aszites (Ozawa et al. 2000). Soulillou (1993) beschrieb bereits den Einfluss von Zytokinen auf die Transplantation. In den Zellen des Transplantates werden während der Reperfusionsphase Zytokine transkribiert und haben damit auf die postoperative Phase einen Einfluss. Außerdem können Zytokine sofort nach der Transplantation Signale vermitteln, die zu einem frühen Wachstum von genetisch kompetenten Zellen führen, und damit direkt oder indirekt den Lymphozyten des Empfängers Antigene präsentieren (Soulillou 1993).

Deshalb entschlossen wir uns die ersten fünf Tage nach LTX unter dem Gesichtpunkt der vier wichtigsten Komplikationen (Abstoßung, Infektion, INF und MOV), sowohl im Serum als im Aszites auf sieben verschieden Zytokine zu untersuchen, um zu erkunden ob diese in der frühen postoperativen Phase bereits Einfluss auf den weiteren Verlauf haben könnten.

Löslicher Tumor Nekrosefaktor Rezeptor II

In den ersten fünf Tagen nach Lebertransplantation zeigten unsere Messungen der sTNF RII-Konzentration für die Gruppen mit akuter Abstoßung oder Infektion sowohl im Aszites als auch im Serum keine Konzentrationsveränderungen. Dagegen ließ sich in einer Studie von Függer et al. (1992) nachweisen, dass erhöhte Konzentrationen von TNF im Serum gleich nach LTX mit einem erhöhten Risiko der Abstoßung einhergingen. Allerdings zeigten auch Mueller et al. (1996) bei Patienten mit LTX, dass während der Reperfusion erhöhte Konzentrationen von sTNF RII im Serum gemessen wurden, wenn diese im Verlauf eine

Abstoßung bekamen. In der Studie von Mueller et al. (1996) war allerdings die Patientenzahl sehr viel größer, so dass ein Vergleich mit unserer Untersuchung nur eingeschränkt möglich ist. Auch handelte es sich in beiden Untersuchungen nur um Erwachsene, die transplantiert worden waren. Der frühe Konzentrationsanstieg von TNF bei Erwachsenen könnte mit der Reife des Immunsystems in Zusammenhang stehen, da die akute Abstoßung von Th1-Zellen mit vermittelt wird, und diese sich bei Kindern erst durch Stimulation bilden (Ganschow et al. 2001).

In der Gruppe mit INF fiel in den ersten Tagen nach LTX im Serum und Aszites eine erhöhte Konzentrationen von sTNF RII auf, siehe **Abbildung 3**. Auch bei den Patienten mit im Verlauf auftretendem MOV waren im Serum und Aszites in den ersten fünf Tagen nach LTX höhere Konzentrationen an sTNF RII zu messen als bei Patienten mit Infektion oder akuter Abstoßung (siehe **Abbildung 3**). Oldhafer et al. (1999) konnten eine vermehrte Produktion von TNF im Serum, durch Kupffer-Zellen produziert, bei Patienten mit Reperfusionsverletzungen nachweisen. Die hohe Konzentration von sTNF RII im Aszites in unserer Studie mit MOV spricht für eine lokale Produktion, des sTNF RII aufgrund eines Perfusionsschadens während der Transplantation.

Interleukin-2 löslicher Rezeptor alpha

Wir maßen bei Patienten, die im Verlauf eine akute Abstoßung hatten, bereits in den ersten fünf Tagen nach der Transplantation erhöhte Konzentrationen von IL-2 sRα im Serum, siehe **Abbildung 4**. Allerdings war der Unterschied zu den Patienten mit einer Infektion nicht signifikant. Verschiedene Studien bei Patienten mit Abstoßungsreaktionen nach Nierentransplantation zeigten schon vor der klinischen und histologischen Diagnose einen Konzentrationsanstieg von IL-2 (Sunder-Plassmann et al. 1988) und IL-2R (Colvin et al. 1987) im Serum. Dabei ist zu bedenken, dass dieser Anstieg im Serum auch aufgrund der beeinträchtigten Nierenfunktion während der Nierenabstoßung kommen könnte. In einer Untersuchung von Tilg et al. (1990) zeigte sich im Konzentrationsverlauf von IL-2 nach LTX im Serum keine besonderen Auffälligkeiten und war zur Differenzierung

zwischen Infektion und akuter Abstoßung nicht zu verwerten. Unsere Ergebnisse bestätigten, dass IL-2 sRα zur Unterscheidung zwischen akuter Abstoßung und Infektion nicht verwendbar ist.

In unserer Messung war bei der Gruppe mit INF im Serum eine höhere Konzentration an IL-2 sRα in den ersten fünf Tagen nach LTX zu sehen (siehe **Abbildung 4**), als bei den Patienten mit akuter Abstoßung oder Infektion. Bei den Patienten mit MOV war ab dem zweiten Tag nach LTX eine höhere Konzentration an IL-2 sRα im Serum und Aszites zu messen als bei den Gruppen mit akuter Abstoßung, Infektion und INF. Dabei war die IL-2 sRα Konzentration im Serum bei den Patienten mit MOV höher als im Aszites (siehe **Abbildung 4**). Eine Untersuchung von Mueller at al. (1996) konnte IL-2R schon während der Reperfusionsphase nachweisen. Dabei korrelierte die sIL-2R Konzentration mit der Dauer der Konservierungsphase und der Verletzungen während der Reperfusion. Es konnte nachgewiesen werden, dass IL-2 sRα nur von aktivierten Zellen wie den T-Zellen, B-Zellen, NK-Zellen u. a. produziert wird (Elg et al. 1997). In einer Studie von Elg et al. (1997) wurde bei Tumorpatienten eine erhöhte Konzentration an IL-2 sRα beschrieben und als eine Lücke bei der Aktivierung von Lymphozyten interpretiert. In unserer Untersuchung war IL-2 sRα besonders bei Patienten mit MOV im Serum erhöht, wodurch es zu einer verminderten Aktivierung der Lymphozyten kommen kann, und damit bereits in den ersten Tagen nach Transplantation zu einem MOV betragen könnte. Die höhere IL-2 sRα Konzentration im Serum als im Aszites spricht für eine systemische Produktion.

Interleukin 1-Rezeptorantagonist

In den ersten fünf Tagen nach LTX war in der Gruppen mit einer späteren akuten Abstoßung bereits eine niedrigere Konzentration von IL-1ra im Serum und Aszites zu messen, als bei den Patienten mit einer Infektion. In mehreren Studien wurde nachgewiesen, dass die Balance zwischen IL-1ra und IL-1 wichtig ist für die Regulation der Antwort auf Entzündungen (Ferretti et al. 1994, Miller et al. 1993). Die Funktion als antiinflammatorisches Protein von IL-1ra konnte schon in vitro als

auch in vivo nachgewiesen werden (Conti et al. 2000). Teppo et al. (1998) beschrieben, dass die Verabreichung von IL-1ra während entzündlicher Erkrankungen bei Menschen und Tieren zu einer schnelleren Genesung mit geringerer Mortalität kommt. Eine niedrige Menge an IL-1ra bereits in den ersten Tagen nach LTX könnte im weiteren Verlauf zu einer ungehemmten Zunahme an IL-1 führen und damit zu einer Abstoßungsreaktion.

In unseren Messungen zeigte sich bei der Gruppe mit INF in den ersten Tagen nach LTX im Serum und Aszites keine veränderte Konzentration von IL-1ra. Dagegen war bei den Patienten mit einem MOV eine erhöhte Konzentrationen an IL-1ra im Serum und Aszites zu eruieren. Außerdem war in der Gruppe mit MOV eine höher Menge an IL-1ra im Aszites als im Serum zu messen. Dagegen zeigte eine Studie von Oliveira et al (1997), dass die Konzentration von IL-1ra im Serum höher war bei Patienten mit einem stabilen Verlauf nach Nierentransplantation. Dagegen publizierten Gerlach et al. (1996) eine erhöhte Konzentration von IL-1ra unabhängig vom Verlauf nach LTX. Das Kupffer-Zellen IL-1ra produzieren konnten Gabay et al. (1997) nachweisen. Der hohe Gehalt, in unserer Studie, an IL-1ra im Aszites in den ersten Tagen bei Patienten mit einem MOV spricht für eine lokale Produktion. Borrelli et al. (1996) publizierten, dass hohe Konzentrationen von IL-1 bei Patienten mit einem MOV gefunden worden sind. Da IL-1ra von den gleiche Zellen produziert wird wie IL-1 (Grehan et al.), und auch auf die gleiche Stimulation produziert wird wie IL-1 (Teppo et al.), kann es schon sehr früh nach LTX zu einem Konzentrationsanstieg an IL-1ra kommen. Die hohen Konzentrationen an IL-1ra im Serum und Aszites bei Patienten mit MOV sprechen für eine starke Entzündungsreaktion schon in den ersten Tagen nach LTX.

Hepatozyten Wachstumsfaktor

Das Zytokin HGF zeigte in unseren Messungen im Serum in den ersten fünf Tagen nach LTX zwischen den Gruppen mit INF, MOV, Abstoßung oder Infektion keine wesentlichen Unterschiede. Dagegen fällt im Aszites bei den Patienten mit einem MOV bereits in den ersten Tagen nach der Operation eine höhere Konzentration an HGF als bei den Patienten mit Infektion, INF oder akuter

Abstoßung auf (siehe **Abbildung 6**). Suehiro et al. (1997) postulierten, dass HGF im Serum nach LTX signifikant erhöht war bei Patienten mit schlechter Transplantatfunktion. Zusätzlich wurde in dieser Studie gezeigt, dass die Konzentrationserhöhung mit der Größe des Leberschadens korrelierte. Gleichzeitig wurde bei der Untersuchung von Suehiro et al. (1997) nachgewiesen, dass HGF schon währen der Konservierungszeit und Reperfusion produziert wurde. Durch diese frühe HGF Produktion in der transplantierten Leber kann es bei starker Schädigung des Gewebes zu einer hohen Konzentration im Aszites in den ersten Tagen nach der Operation bei Patienten mit MOV kommen. Das es in unserer Untersuchung nur bei der Gruppe mit MOV zu einer höheren Konzentration an HGF im Aszites kam, aber nicht bei den Patienten mit INF, könnte damit zusammenhängen, dass die Leber auch für die Clearance von HGF verantwortlich ist (Boros et al. 1995). Wie bereits weiter oben erwähnt, ist HGF auch wichtig für die Regeneration anderer Organe, wie u. a. die Nieren (Nagaike et al. 1991), die Lunge (Yanagita et al. 1993) und die Skelettmuskulatur (Jennische et al. 1993). Da bei einem Multioranversagen der gesamte Organismus betroffen ist, könnte es bereits in den ersten Tagen nach LTX zum Versuch der Regeneration mit einer vermehrten Produktion an HGF kommen. In einer Untersuchung von Michalopoulos et al. (1992) wurde publiziert, dass HGF vor allem in Geweben vorhanden ist, die zum portalen Zustromgebiet gehören. Durch eine verminderte Clearance der Leber könnte es dann zu Akkumulation von HGF im Aszites kommen. In einer Untersuchung von Asakura et al. (2000) wurde bereits auf ein Absinken der HGF Konzentration innerhalb von sechs Stunden nach LRLTX bei Patienten mit unproblematischen Verlauf hingewiesen.

Interleukin-15

In unserer Messung der IL-15 Konzentration in den ersten Tagen nach LTX zeigte sich in allen vier Patientengruppen (MOV; INF, Abstoßung und Infektion) im Aszites eine deutlich höhere Konzentration als im Serum, wie in **Abbildung 7** gezeigt wird. Insgesamt fiel bei den Patienten mit im Verlauf auftretenden Infektion die höchsten Konzentrationen an IL-15 im Aszites auf. Da sich bei allen Patientengruppen eine höhere Konzentrationen an IL-15 im Aszites fand, spricht

dies für eine lokale IL-15 Produktion. Wie bereits schon oben erwähnt, konnte in transplantierten Lebern eine vermehrte lokale Expression von mRNA nachgewiesen werden (Baan et al. 1998). Auch konnte in der genannten Studie gezeigt werden, daß die lokale Expression von mRNA unabhängig von Abstoßungsreaktionen erfolgte.
Außerdem postulierten Baan et al. (1998), dass IL-15 auch von Makrophagen produziert wird. Andere Studien zeigten, dass bei Leberzirrhose mit spontaner bakterieller Peritonitis die sezernierten Zytokine im Aszites von Makrophagen gebildet werden. Das wir bei Patienten mit im Verlauf auftretender Infektion die höchsten IL-15 Konzentration im Aszites von allen vier Gruppen vorfanden, könnte durch die Produktion von IL-15 in der Leber und durch die lokalen Makrophagen zu erklären sein. Allerdings ist das Konzentrationsgefälle von Serum zu Aszites bei den Patienten mit Infektion nicht signifikant, was mit der kleinen Anzahl an untersuchten Patienten in Zusammenhang stehen dürfte.

Interleukin-6

In unserer Untersuchung fiel in den Gruppen mit akuter Abstoßung und Infektion eine signifikant erhöhte Konzentration von IL-6 im Aszites in den ersten Tagen nach LTX auf. Aber auch bei Patienten mit MOV und INF war die Konzentration an IL-6 im Aszites höher als im Serum (siehe **Abbildung 8**). Den höchsten Gehalt an IL-6 fanden wir im Aszites bei der Gruppe mit INF. Das IL-6 in der Leber produziert wird, konnte von Kita et al. (1996) nachgewiesen werden, indem gezeigt wurde, dass Kupffer-Zellen und vaskuläre Endothelzellen IL-6 produzieren. Außerdem fanden Umeshita et al. (1996) bei Patienten mit LTX am Tag der Operation erhöhte Konzentrationen an IL-6 in der Galle, mit einem Abfall von innerhalb 48 Stunden. In einer Untersuchung von Sakamoto et al. (1994) wurde die mRNA von IL-6 in Leukozyten aus dem abdominalem Exsudat innerhalb der ersten 48 Stunden nach abdominalen Operationen nachgewiesen, während in den Leukozyten des Serums keine mRNA von IL-6 nachweisbar war. Durch diese lokale Produktion kann es gerade im Aszites zu einer höheren Konzentration an IL-6 als im Serum kommen. In unserer Untersuchung war das Konzentrationsgefälle von Aszites zu Serum nur bei der Gruppe mit Abstoßung

und Infektion signifikant, was mit der höheren Patientenzahl als in den Patientengruppen mit MOV und INF zusammenhängen könnte.

In unseren Messungen war zwischen der Patientengruppe mit Infektion und der Gruppe mit akuter Abstoßung sowohl im Serum als auch im Aszites keine signifikanten Unterschiede im Konzentrationsverlauf von IL-6 zu sehen. Im Gegensatz dazu berichteten Sautner et al. (1995), dass in der frühen postoperativen Phase nach LTX es zu einem signifikanten Anstieg von IL-6 im Serum bei Patienten kam, die im Verlauf eine Infektion erlitten. Aber auch Asakura et al. (2000) publizierten, dass es bei Komplikationen zu keinem signifikanten Unterschied der IL-6 Konzentration im Serum in den ersten Tagen nach LR-LTX kam. Diese Ergebnisse sowie unsere Daten sprechen für einen unspezifischen Verlauf von IL-6 im Serum und Aszites.

Es fiel auf, dass Patienten mit einer INF sowohl im Serum, aber besonders im Aszites die höhere Konzentrationen an IL-6 in den ersten Tagen nach LTX hatten als die Gruppen mit akuter Abstoßung oder Infektion, wie in **Abbildung 8** dargestellt. Auch konnten wir in der Gruppe mit MOV im Serum höhere IL-6 Konzentrationen messen als bei Patienten mit Abstoßung oder Infektion. IL-6 ist als Zytokin bekannt, welches eine Antwort auf Stress nach Operationen vermittelt, und damit ein früher Indikator von Gewebsverletzungen ist (Ozawa et al. 2000). In einer Untersuchung von Mueller et al. (1996) konnte bei Erwachsenen nach LTX gezeigt werden, dass die Konzentration von IL-6 innerhalb von 48 Stunden nach Reperfusion schneller sank und niedrigere Werte erreichten als bei Patienten mit guter initialer Transplantatfunktion. Auch Kita et al. (1996) beschrieben, dass die Gefahr des Verlustes des Transplantates höher war, je häufiger es zu Anstiegen von IL-6 im Serum kam. Die hohen Konzentrationen im Aszites sprechen für eine lokale Produktion. Das die IL-6 Konzentration besonders bei INF und MOV ansteigt, ist auf eine Verletzung der Endothelzellen zurückzuführen, die dann vermehrt IL-6 produzieren. IL-6 ist ein früher Parameter in Bezug auf die Funktion des Transplantates.

Interleukin-10

In unseren Messungen von IL-10 bei der Gruppe mit akuter Abstoßung fiel ein signifikanter Konzentrationsabfall im Aszites vom ersten auf den zweiten Tag nach LTX auf. Wie bereits schon weiter oben erwähnt, ist die antiinflammatorische Wirkung von IL-10 bekannt, indem es die Makrophagen-Aktivität und Synthese von vielen Zytokinen (u. a. TNF) hemmt (Moore et al. 2001). Kommt es in den ersten Tagen nach LTX zu einem Abfall der IL-10 Konzentration, kann die lokale entzündliche Reaktion auf das Transplantat so stark ausfallen, dass es zu einer akuten Abstoßung um den vierten bis zehnten postoperativen Tag nach Transplantation kommen kann. Der erneute Wiederanstieg der IL-10 Konzentration könnte durch eine vermehrte Produktion von Makrophagen und T-Zellen erklärt werden, die durch die anfängliche verminderte antiinflammatorische Wirkung vermehrt eingewandert sind. Ein anderer Punkt ist, dass Zeimet et al. (1998) nachweisen konnte, dass IL-10 die Entwicklung der Th2-Typ Immunität vermittelt. Auch zeigten Ganschow et al. (2001), dass Kinder die im ersten Lebensjahr lebertransplantiert wurden, weniger Abstoßungsperioden hatten als ältere Kinder. Diese Beobachtung wird auf ein ausgeprägtes Th2-Zytokinmuster im Säuglingsalter zurückgeführt (Ganschow et al 2001). Kommt es nun in den ersten Tagen zu einem Abfall von IL-10, dass von Th2-Zellen produziert wird, kann es durch eine verminderte Protektion zu einer Abstoßungsreaktion kommen.

In dieser Studie war eine höhere IL-10 Konzentrationen im Serum und Aszites in den ersten vier Tagen bei Patienten mit einer INF und MOV zu messen als bei Patienten mit einer späteren Abstoßungsreaktion oder Infektion. Dabei fiel auch innerhalb der Gruppen mit INF und MOV eine höhere Konzentrationen von IL-10 im Aszites als im Serum auf. Mueller et al. (1996) berichteten, dass IL-10 im Serum bei Erwachsenen nach LTX signifikant mit der Dauer der Konservierungszeit und der Verletzung bei der Reperfusion korrelierte. Außerdem zeigte sich in dieser Studie, dass die IL-10 Konzentration innerhalb von 48 Stunden nach Reperfusion bei guter initialer Transplantatfunktion schnell sank (Mueller et al. 1996). Aus unseren Daten ist zu schließen, dass IL-10 während der Transplantation lokal produziert wird und bei schlechter initialer Funktion im Serum und besonders im Aszites konstant hoch bleibt.

Zusammenfassend ließen sich folgende Beobachtungen ableiten:

Die Messungen in den ersten Tagen nach LTX zeigten, dass ein Konzentrationsabfall von IL-1ra im Serum und Aszites eine früher Hinweis auf eine später auftretende akute Abstoßung sein kann. Eine sehr hohe Konzentration von IL-15 im Aszites in den ersten Tagen nach LTX kann auf eine später auftretende Infektion hinweisen. Frühe Indizien für eine INF können hohe Konzentrationen an sTNF RII, IL-10 und IL-6 im Serum und Aszites sowie IL-2 sRα im Serum sein. Frühe Hinweise auf ein MOV können hohe Konzentrationen an sTNF RII und IL-6 im Serum, HGF im Aszites und IL-1ra, IL-2 sRα und IL-10 im Aszites und Serum sein. Um statistisch signifikante Aussagen machen zu können, müsste eine größere Patientengruppe untersucht werden.

5 Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden bei Kindern nach Lebertransplantation Serum und Aszites auf die Zytokine IL-1ra, IL-2 sRα, sTNF RII, HGF, IL-10, IL-15 und IL-6 untersucht. Die Zytokinkonzentrationen wurden mit Hilfe der ELISA-Technik (Quantikine, R&D System) quantifiziert. Die untersuchten Zytokine konnten sowohl im Aszites als auch im Serum nachgewiesen werden.

Es zeigte sich in dieser Studie, dass der Verlauf der einzelnen Zytokinkonzentrationen im Serum und Aszites mit dem Auftreten von Komplikationen nach LTX in Zusammenhang steht. Das Zytokin IL-1ra stieg im Aszites bereits 48 Stunden vor einer akuten Abstoßung signifikant an, dagegen kam es im Serum nicht zu einem signifikanten Konzentrationsanstieg. Während einer Infektion zeigte sich bei den Zytokinen IL-6 und IL-15 ein signifikanter Konzentrationsanstieg im Vergleich zum Serum.

Zytokine im Serum und Aszites können schon früh auf eine Komplikation hinweisen. Im Vergleich der Zytokinkonzentration in den ersten fünf Tagen nach LTX fiel bei Patienten mit einer späteren Abstoßung eine niedrigere Konzentration von IL-1ra im Aszites und Serum auf. Bei Patienten mit einer späteren Infektion zeigten sich hohe Konzentrationen von IL-15 im Aszites. Hohe Konzentrationen an sTNF RII, IL-6 und IL-2 sRα in den ersten Tagen nach LTX im Serum und Aszites waren mit einem schlechten Transplantatergebnis assoziiert.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass die Messung von Zytokinen im Aszites nach LTX ein früher Parameter für das Auftreten von Komplikationen sein kann. Zur Bestimmung von Zytokinen im Aszites als routinemäßigen Parameter in der Klinik sind weitere Untersuchungen an größeren Patientengruppen notwendig.

6 Anhang

Auf den folgenden Seiten sind die Abbildungen zu den Ergebnissen von 3.1. dargestellt. Dabei sind die Zytokine IL-1ra, IL-2 sRα, sTNF RII, HGF, IL-10, IL-15 und IL-6 an Durchschnittlich 12 Tagen vom Serum mit dem Aszites korreliert worden. Bei allen gemessenen Zytokinen fand sich nach LTX eine signifikante Korrelation vom Serum zum Aszites.

Abbildung 10: Konzentrationsvergleich von Interleukin-1 Rezeptor Antagonist im Serum und Aszites bei Kindern (n=26) nach Lebertransplantation

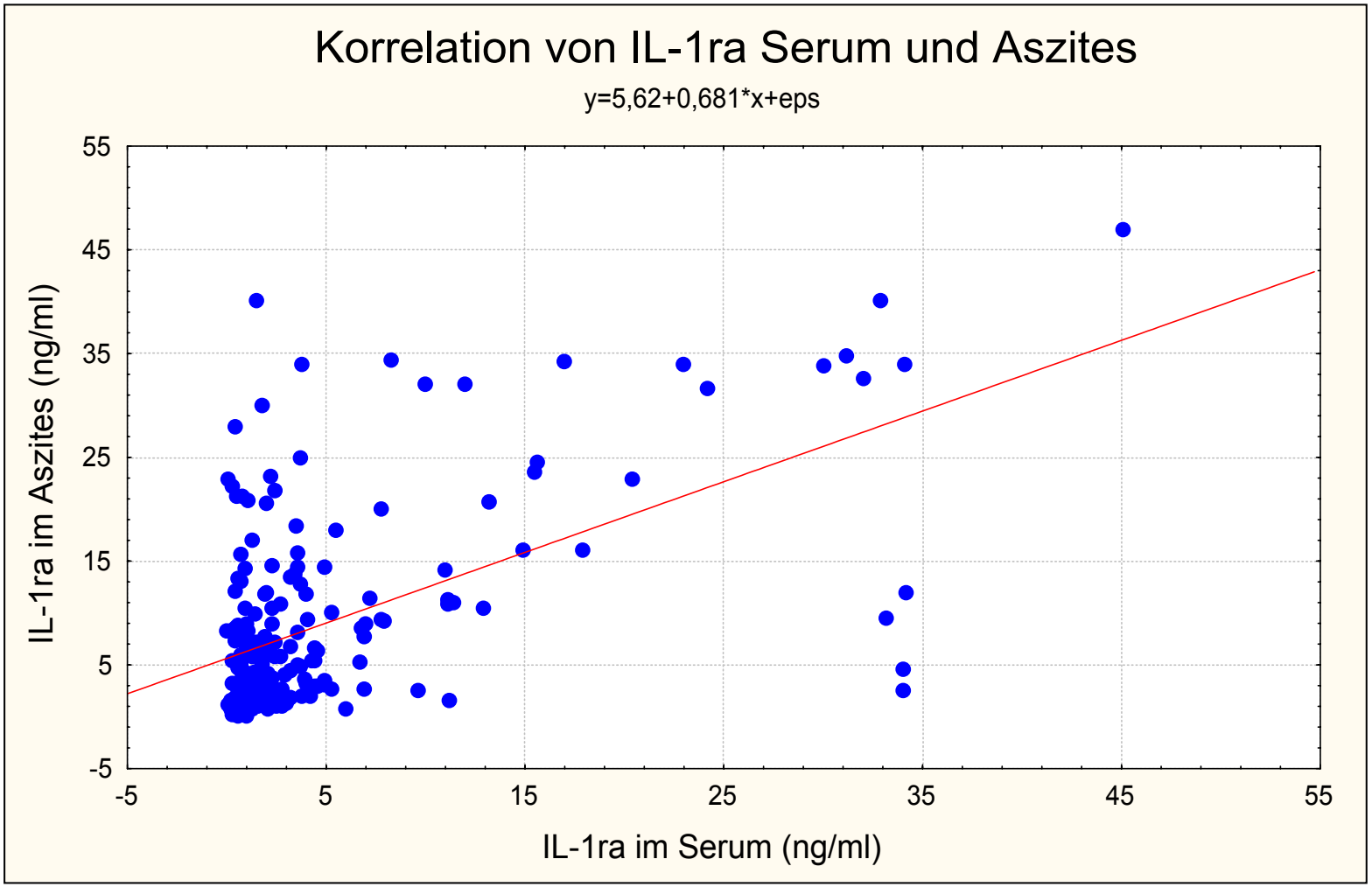


Abbildung 11: Konzentrationsvergleich von Interleukin-2 löslicher Rezeptor α im Serum und Aszites bei Kindern (n=26) nach Lebertransplantation

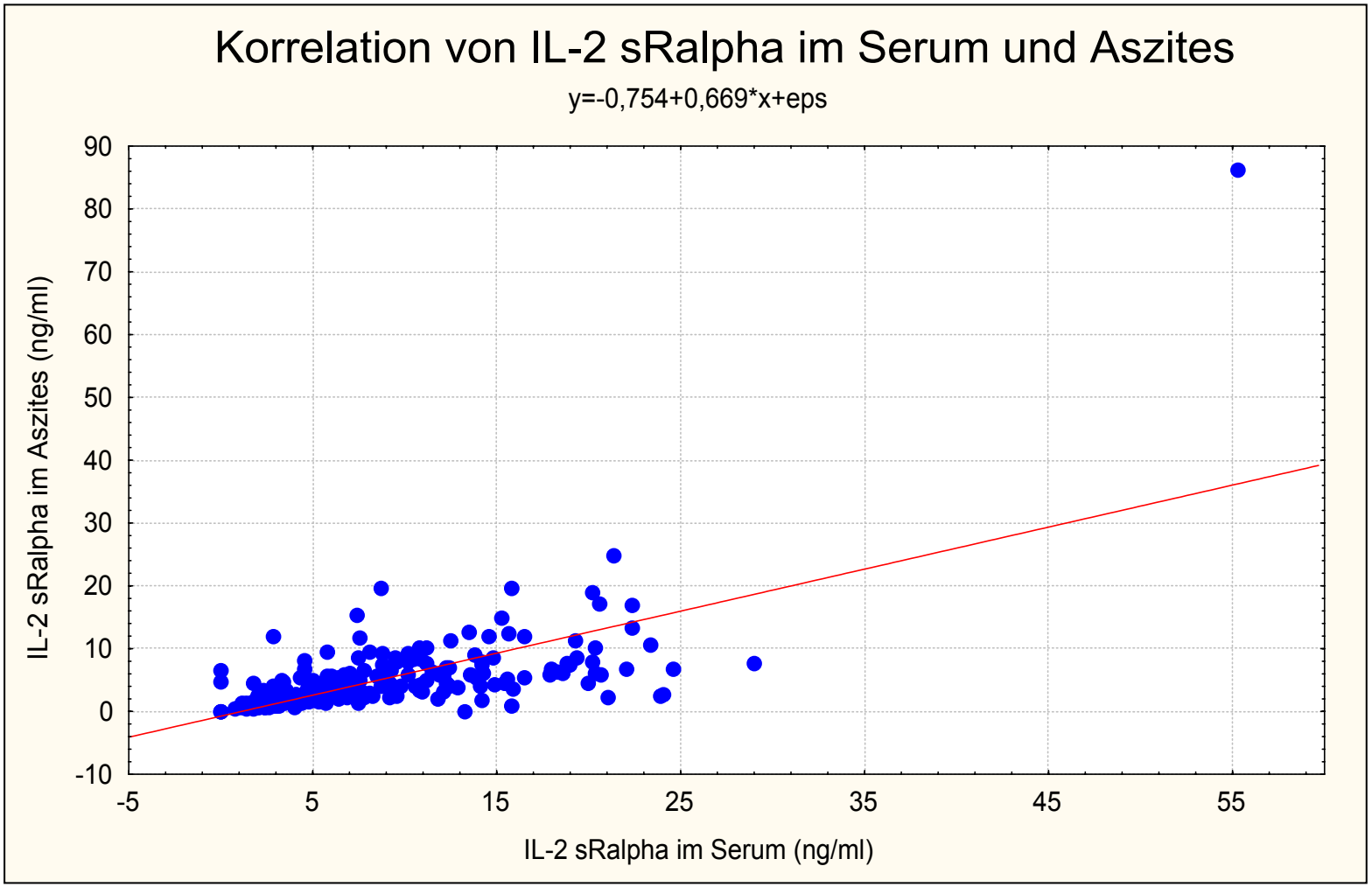


Abbildung 12: Konzentrationsvergleich von Interleukin-10 im Serum und Aszites bei Kindern (n=26) nach Lebertransplantation

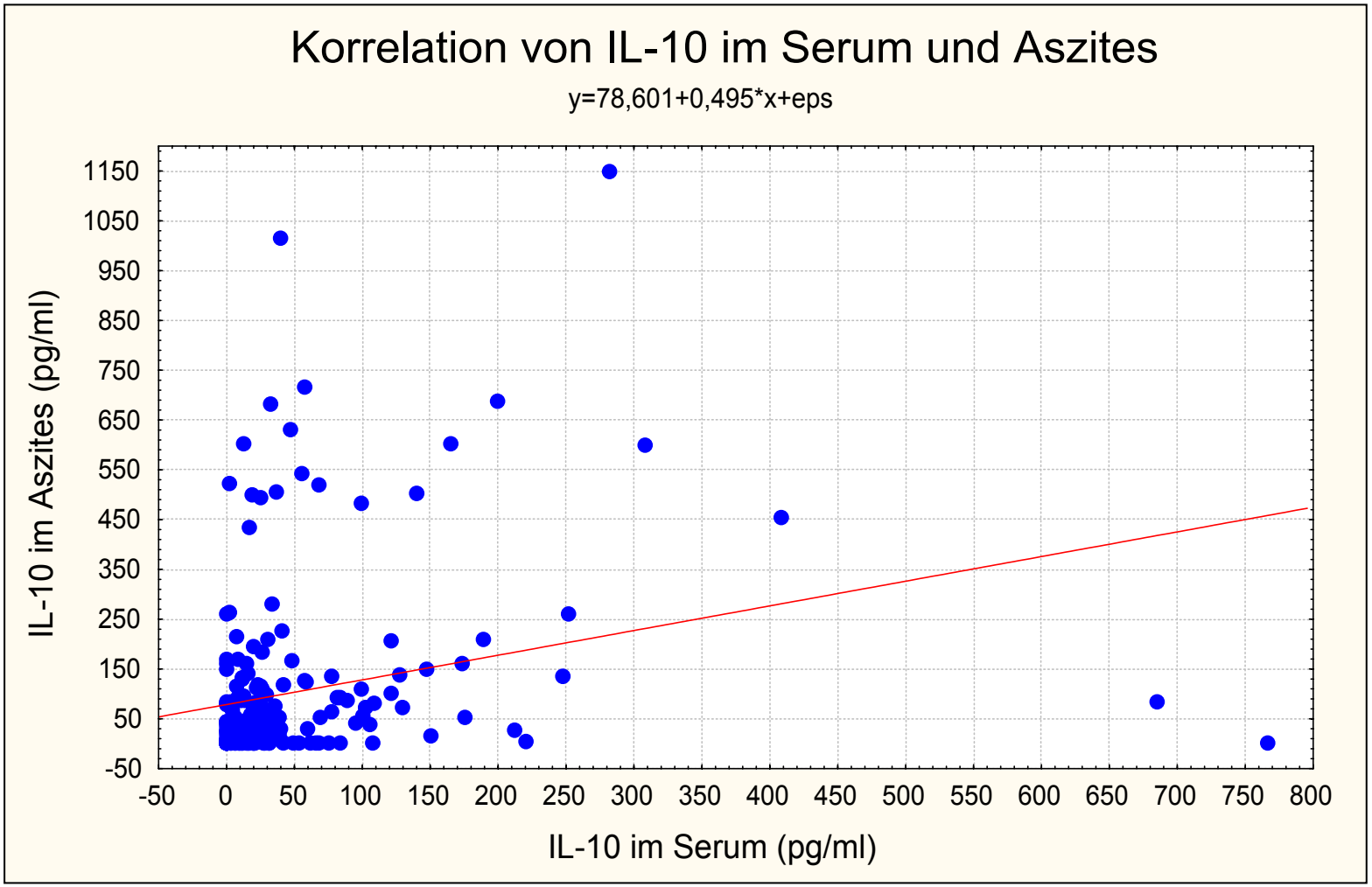


Abbildung 13: Konzentrationsvergleich von Interleukin-15 im Serum und Aszites bei Kindern (n=26) nach Lebertransplantation

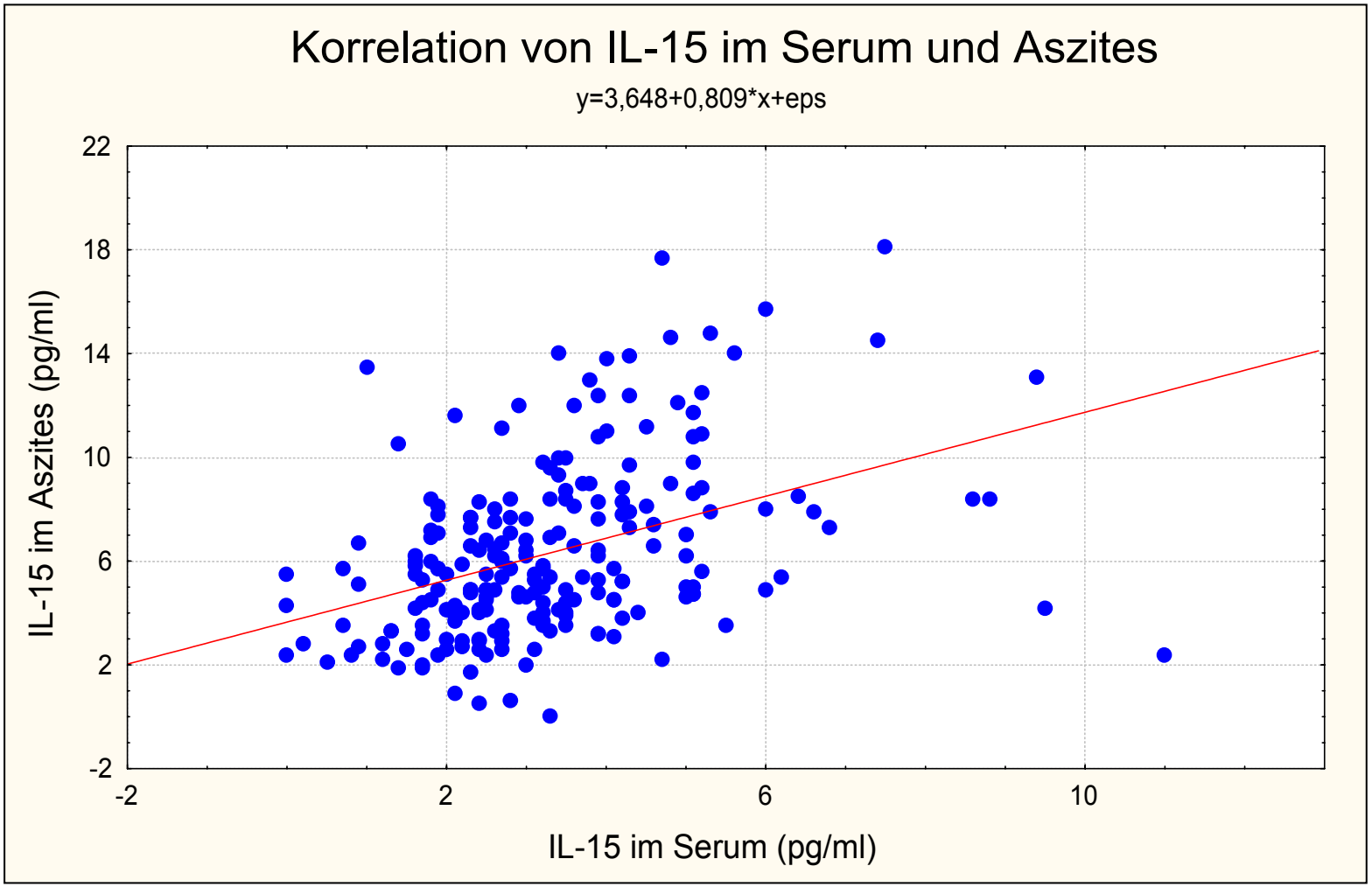


Abbildung 14: Konzentrationsvergleich von Interleukin-6 im Serum und Aszites bei Kindern (n=26) nach Lebertransplantation

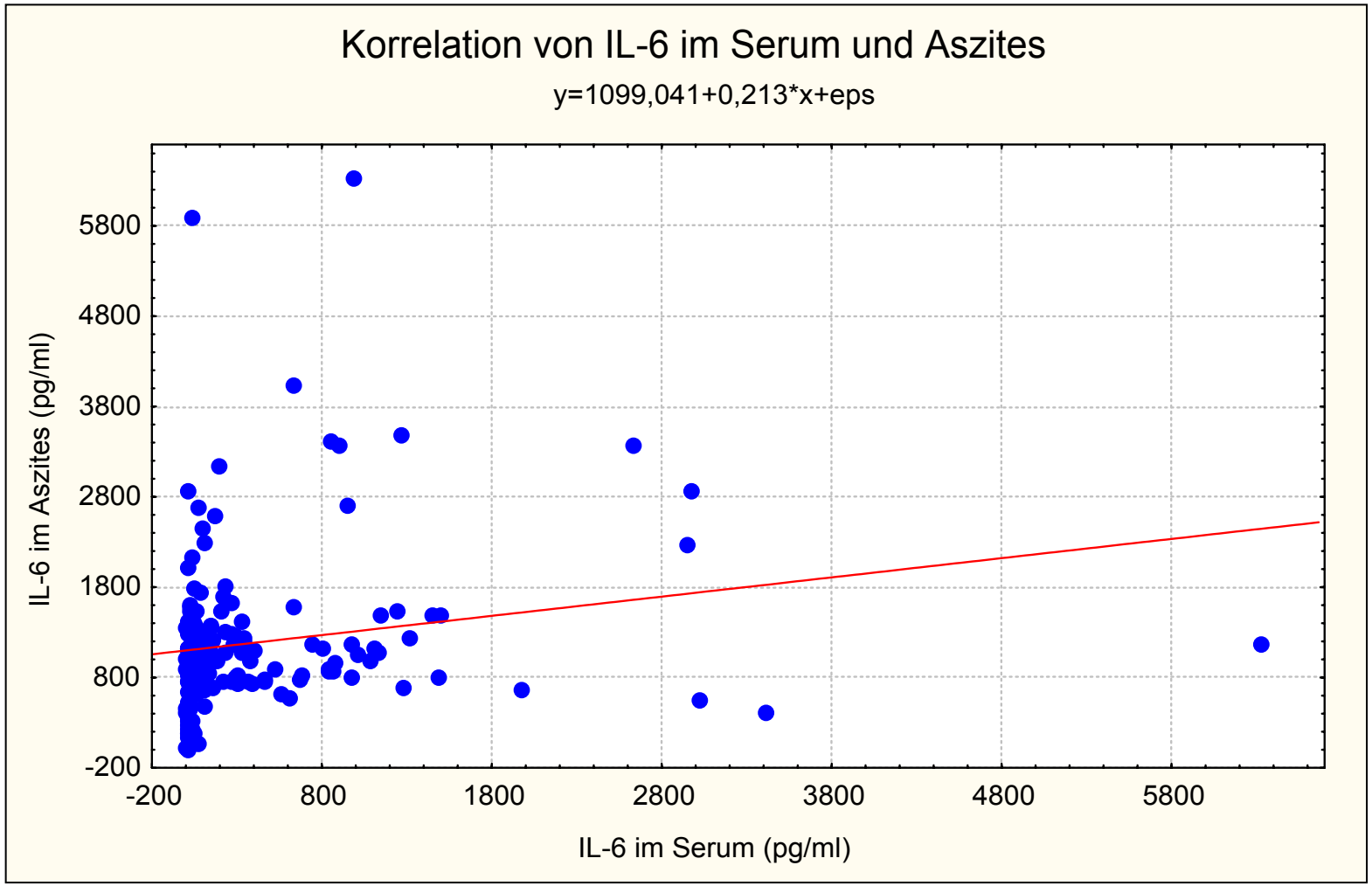


Abbildung 15: Konzentrationsvergleich von löslicher Tumor Nekrosefaktor-Rezeptor II im Serum und Aszites bei Kindern (n=26) nach Lebertransplantation

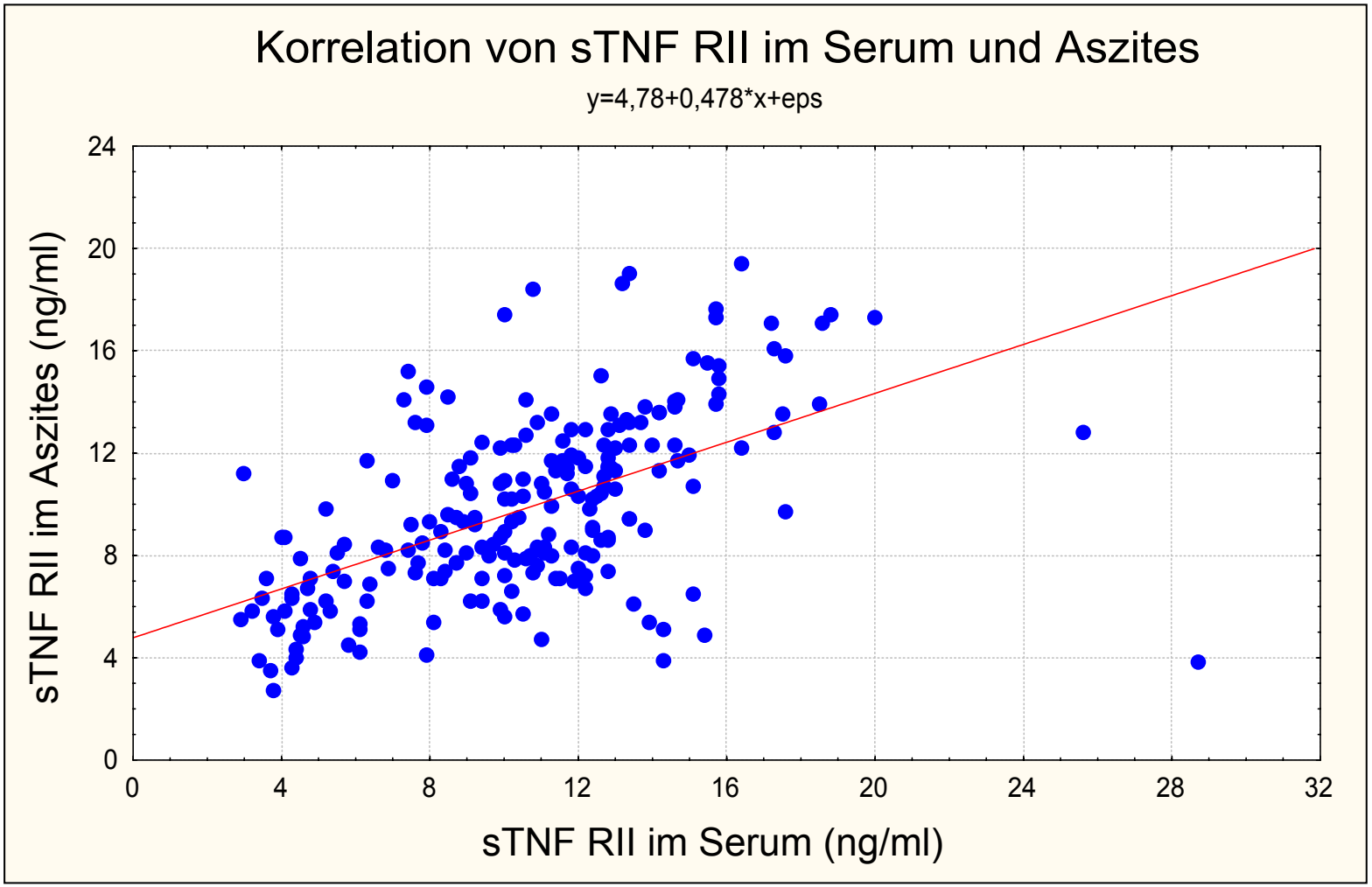
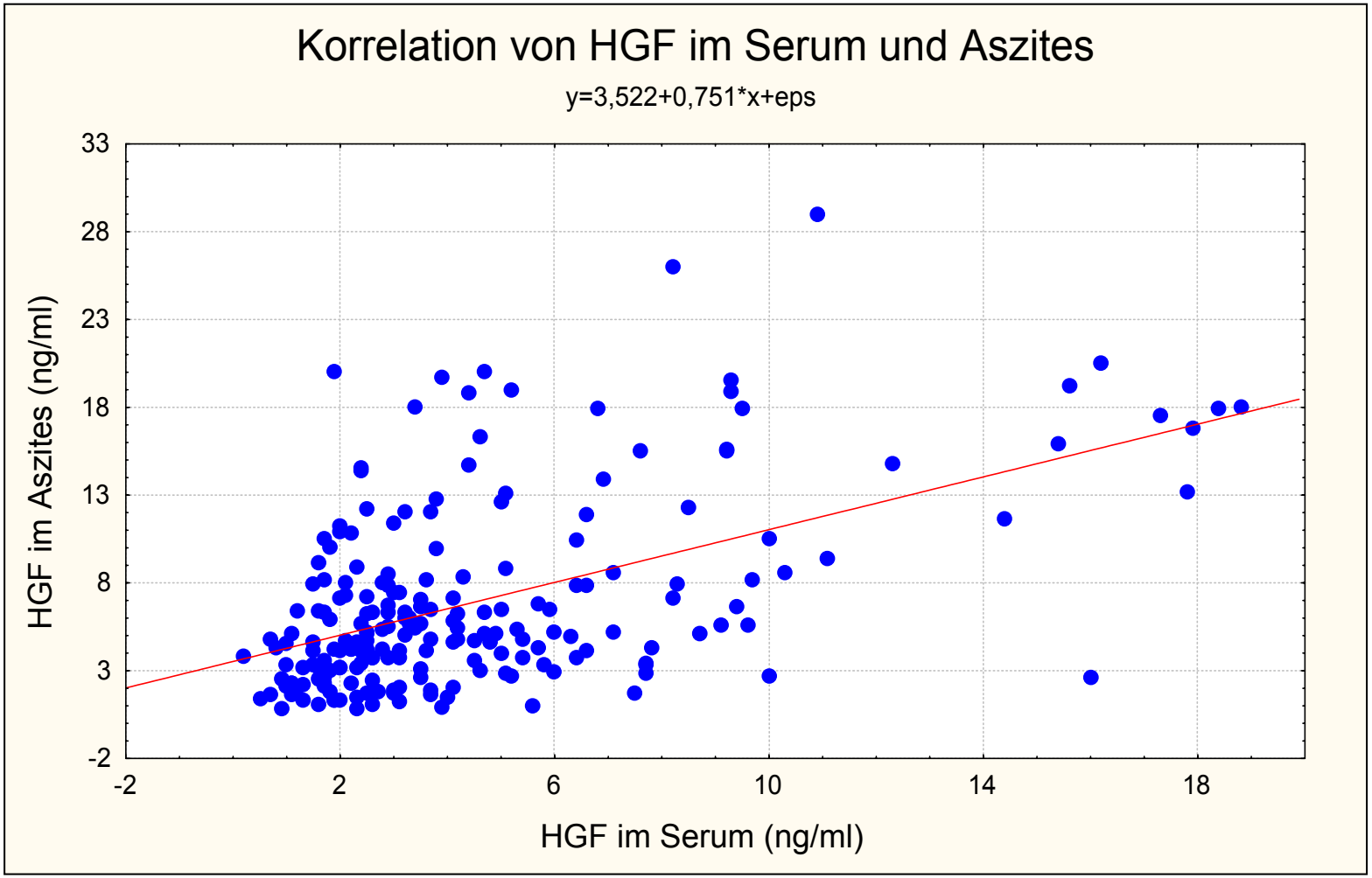


Abbildung 16: Konzentrationsvergleich von Hepatozyten Wachstumsfaktor im Serum und Aszites bei Kindern (n=26) nach Lebertransplantation



7 Literaturverzeichnis

Aarden L, Helle M, Boije L, Paskcual-salcedo D, Groot e (1991) Differential induction of interleukin-6 production in monocytes, endothelial cells and smooth muskel cells. *Cytokines and Inflammation* (eds Bienvenu J, Fradelize D), S. 15-27, John Libbey Eurotext, Paris.

Adams DH, Burnett D, Stockley RA, Hubscher S, McMaster P, Elias E (1988) Biliary β2-Microglobulin in liver allograft rejection. *Hepatology* 8 (6): 1565-1570.

Adams DH, Hubscher SG, Wang L, Elias E, Neuberger JM (1989) Soluble interleukin-2 receptors in serum and bile of liver transplant recipients. *Lancet* 1: 469-471.

Andus T, Gross V, Holstege A, Ott M, Weber M, David M, Gallati H, Gerok W, Schölmerich J (1992) High concentration of soluble tumor necrosis faktor receptors in ascites. *Hepatology* 16 (3); 769-755.

Antin JH, Weinstein HJ, Guinan EC, McCarthy P, Bierer BE, Gilliland DG, Parsons SK, Ballen KK, Rimm IJ, Falarano G, Bloedow DC, Abate L, Lebsack M, Burakoff SJ, Ferrara LM (1994) Recombinant human Interleukin-1 Receptor Antagonist in the Treatment of Steroid-Resistant Graft-Versus-Host Disease. *Blood* 84 (4): 1342-1348.

Asakura T,Ohkochi N, Satomi S (2000) Changes of serum cytokines associated with hepatic regeneration after living-related liver transplantation. *Transplant Proc* 32: 2199-2203.

Baan CC, Niesters HG, Metselaar HJ, Mol WM, Loonen EH, Zondervan PE, Tilanus HW, Ijermans JM, Schalm SW, Weimar W (1998) Increased intragraft IL-15 mRNA expression after liver transplantion. *Clin Transplant* 12: 212-218.

Baan CC, Knoop CJ, van Gelder T, Holweg CT, Niesters HG, Smeets TJ, van der Ham F, Zondervan PE, Maat LP, Blak AH, Weimar W (1999) Anti-CD25 therapy reveals the redundancy of the intragraft cytokine network after clinical heart transplantation. *Transplantation* 67 (6): 870-876.

Bac DJ, Pruimboom WM, Mulder PGH, Zijlstra FJ, Wilson JHP (1995) High interleukin-6 production within the peritoneal cavity in decompensated cirrhosis and malignancy-related ascites. *Liver* 15: 265-270.

Birk D, Berger D, Limmer J, Beger HG (1994) Is the elimination of endotoxin and cytokines with continuous lavage an alternative procedure in necrotizing enterocolitis. *Acta Paediatr Suppl* 396: 24-6.

Boros R, Miller CM (1995) Hepatocyte growth factor: a multifunctional cytokine. *The Lancet* 1995, 345: 293-295.

Borrelli E, Roux-Lombard P, Grau GE, Ricou B, Dayer J, Suter PM (1996) Plasma concentrations of cytokines, their soluble receptors, and antioxidans vitamins can predict the development of multiple organ failure in patients at risk. *Crit Care Med* 24: 392-397.

Broelsch CE, Whitington PF, Emond JC, Heffron TG; Thistletwaite JR, Stevens L, Piper J, Whitington SH, Lichtor J (1991) Liver transplantation in children from living related donors. *Ann Surg* 214 (4): 428-439.

Burdelski M (1995) Current concepts in diagnosis and therapy of pediatric liver diseases. *J Hapatol* 23:45-48.

Burdelski M, Ganschow R, Breivik I, Bröring D, Gundlach M, Malago M, Broelsch CE, Rogiers X (1999) Indikation for liver transplantation in children. *European Congress I.H.P.B.A., Budapest*.

Burdelski M, Rogiers X (1999) Liver transplantation in metabolic disorders. *Acta Gastroenterol Belg* 62: 300-305.

Carson WE, Caligiuri M (1996) Interleukin 15: A potential player during the innate immune response to infection. *Exp Parasitol* 84: 291-294.

Chollet-Martin S, Depoix JP, Hvass U, Pansard C, Vissuzaine, Gougerot-Pocidalo MA (1990) Raised plasma levels of tumor necrosis factor in heart allograft rejection. *Transplant Proc* 22 (1): 283-286.

Colvin RB, Fuller TC, McKeen L Kungen PC, Ip SH, Cosimi AB (1987) Plasma interleukin 2 receptor levels in renal allograft recipients. *Clin Immunol Immunopathol* 43 (2): 273-6.

Conti F, Breton S, Batteux F, Frulan V, Houssin D, Weill B, Calmus Y (2000) Defective interleukin-1 receptor antagonist production is associated with resistance of acute liver graft rejection to steroid therapy. *Am J Pathol* 157 (5): 1685-1692.

Cuervas MV, Martinez AJ, Dekker A, Starzl TE, Thiel DH (1986) Adult liver transplantation: an analysis of early causes of death in 40 consecutive cases. *Hepatology* 6: 495-501.

Demetris AJ, Batts KP, Dhillon AP, Ferrell L, Fung J, Geller AS, Hart J, Hayry P, Hofmann WJ, Hubscher S, Kemnitz J, Koukoulis G, Lee RG, Lewin KJ, Ludwig J, Markin RS, Petrovic LM, Phillips MJ, Portmann B, Rakela J, Randhawa P, Reinholt FP, Reynes M, Robert M, Schlitt H, Solez K, Snover D, Taskinen E, Thung SN, Tillery GW, Wiesner RH, Wight DGD, Williams JW, Yamabe H (1997) Banff Schema for Grading Liver Allograft Rejection: An International Consensus Document. *Hepatology* 25: 658-663.

De Waal Malefyt R, Abrams J, Bennet B, Figdor CG, de Vries JE (1991) Interleukin 10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produces by monocytes. *J Exp Med* 174: 1209-1220.

Drews D, Sturm E, Latta A, Malago M, Rogiers X, Hellwege HH, Broelsch CE, Burdelski M (1997) Complication following living-related and cadaveric liver transplantation in 100 children. *Transplant Proc* 29; 421-423.

Elg SA, Hill RB, Haldman L, Ramakrishnan S (1997) The in vitro effect on T cell function of soluble IL-2Ra from advanced ovarian cancer ascites. *Gynecol Oncol* 66: 133-137.

Elliot JM, Virankabutra T, Jones S, Tanudsintum S, Lipkin G, Todd S, Bion J (2003) Erythropoietin mimics the acute phase response in critical illness. *Critical Care* 7: 35-40.

Ferreti M, Casini-Raggi V, Przarro TT (1994) Neutralization of endogenous IL-1 receptor antagonist exacerbates and prolongs inflammation in rabbit immune colitis .*J Clin Invest* 94: 449.

Függer R, Hamilton G, Steininger R, Mirza D, Schulz F, Mühlbacher F (1992) Intraoperaative estimation of endotoxin, TNF-a, and IL-6 in orthotopic liver transplantation and their relation to rejection and postoperative infektion. *Transplantation* 52 (2): 302-306.

Gabay C, Smith M, Eidlen D, Arend WP (1997) Interleukin 1 receptor antagonist (IL-1Ra) is an acute-phase protein. *J Clin Invest* 99: 2930-2940.

Ganschow R, Nolkemper D, Hoffman T, Gieseking J, Rogiers X, Broelsch CE, Burdelski M (1999) Influence of Th1 and Th2 cytokine patterns on graft acceptance in pediatric liver transplantation. *Transplant Proc* 31: 465-466.

Ganschow R, Nolkemper D, Helmke K, Harps E, Commentz JC, Broering DC, Pothmann W, Rogiers X, Hellwege HH, Burdelski M (2000) Intensiv care management after pediatric liver transplantation: A single-center experience. *Pediatr Transplantation* 4: 273-279.

Ganschow R, Broering DC, Nolkemper D, Albani J, Kemper MJ, Rogiers X, Burdelski M (2001) Th2 Cytokine profile in infants predisposes to improved graft acceptance after liver transplantation. *Transplantation* 72 (5): 929-934.

Gerlach J, Jörres A, Berger A, Schön M, Smith M, Nohr R, Neuhaus P (1996) Systemic liberation of interleukin 1b and interleukin-1 receptor antagonist in the perioperative phase of liver transplantation. *Transpl Int* 9: 405-414.

Goris RJA, Boekhorst TP, Nuytinck JK, Gimbrere JSF (1985) Multiple organ failure. Generalized autodestructive inflammation. *Arch Surg* 120: 1109-1115.

Goss JA, Shackleton CR, Swenson K, Satou NL, Nuesse BJ, Imagawa DK, Kinkhabwala MM, Seu P, Markowitz JS, Rudich SM, McDiarmid SV, Busuttil RW (1996) Orthotopic liver transplantation for congenital biliary atresia: An 11-Year, Single-Center Experience. *Ann Surg* 224 (3): 276-287.

Grehan S, Uhlar CM, Sim RB, Herbert J, Whitehead AS (1997) Expression of a biologically active recombinant mouse IL-1 receptor antagonist and its use in vivo to modulate aspects of the acute phase response. *J Immunol* 159: 369-378.

Grewal H P (1993) Elevated tumor necrosis factor levels are predictive for pancreas allograft transplant rejection. *Transplant Proc* 25 (1): 132-135.

Harmon W (1998) Pediatric Organ Transplantation. *Transplant Proc* 30: 1952-1955.

Heinrich PC, Castell JV, Andus T (1990) Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J* 265: 621-636.

Ibelgaufts H (1995) Dictionary of cytokines. Wiley VCH Verlag, New York.

Imagawa DK, Millis M, Olthoff KM, Derus LJ, Chia D, Lee RS, Ozawa M, Dempsey RA, Iwaki Y, Levy PJ, Terasaki PI, Busuttil RW (1990) The role of tumor necrosis factor in allograft rejection. *Transplantation* 50 (2): 219-225.

Ishiki Y, Ohnishi H, Muto Y, Matsumoto K, Nakamura T (1992) Direct evidence that hepatocyte growth factor is a hepatotrophic factor for liver regeneration and has a potent antiheptitis effect in vivo. *Hepatology* 16 (5): 1227-1235.

Janeway CA, Travers P (1997) Immunologie. *Spectrum* Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg , 2. Auflage.

Jennische E, Ekberg S, Matejka GL (1993) Expression of hepatocyte growth factor in growing and regenerating rat skeletal muscle. *Am J Physiol* 265: C122.

Kelly D A, Mayer D (2001) Liver Transplantation. In: Kelly D (Ed.) Diseases of the liver and biliary system in children, Blackwell Science Ltd. pp 293-312.

Kita Y, Iwaki Y, Noguchi K, Griffith BP, Tzakis AG, Todo S, Fung JJ, Starzl TE (1996) Daily serum interleukin-6 monitoring in multiple organ transplantation with or without liver allografts. *Transplant Proc* 28 (3): 1229-1234.

Kita Y, Iwaki Y, Noguchi K, Tzakis AG, Todo S, Fung JJ, Starzl TE (1996) Daily serum inflammatory cytokine (tumor necrosis factor-α, interleukin-6) monitoring in liver transplantation focusing on allograft rejection: A five-case report. *Transplant Proc* 28 (3): 1237-1240.

Kunz D, Pross M, König W, Lippert H, Manger T (1998) Diagnostic relevance of procalciton, IL-6 and cellular immune status in the early phase after liver transplantation. *Transplant Proc* 30: 2398-2399.

Langrehr JM, Nüssler NC, Neumann U, Guckelberger O, Lohmann R, Radtke A, Jonas S, Klupp J, Steinmüller t; Lobeck H, Meuer S, Schlag H, Lemmens HP, Knoop M, Keck H, Bechstein WO, Neuhaus P (1997) A prospective randomized trial comparing interleukin-2 receptor antibody versus antithymocyte globulin as part of a quadruple immunsuppressive induction therapy following orthotopic liver transplantation. *Transplantation* 63 (12): 1772-1781.

Leeuwenberg JF, Froon AH, Vaessen LM, Hoitsma AJ, Abramowicz, van Hooff JP, Buurman WA (1995) Soluble tumor necrosis factor-receptors are not a useful marker of acute allograft rejection: a study in patient with renal or cardiac allografts. *Transpl Int* 8:459-456.

Lowry RP, Takeuchi T, Cremisi H, Konieczny B (1993) Th2-like effectors may function as antigen-specific suppressor cells in states of transplantation tolerance. *Transplant Proc* 25: 324-6.

McCarthy PL, Abhyankar S, Neben S, Newman G, Sieff C, Thompson RC, Burakoff SJ, Ferrara JL (1991) Inhibition of interleukin-1 by an interleukin-1 receptor antagonist prevents graft-versus-host disease. *Blood* 78 (8): 1915-1918.

Malago M, Rogiers X, Hertl M, Bassas A, Burdelski M, Broelsch CE (1998) Optimization of the use of the cadaveric liver. *Transplant Proc* 30: 3902-3903.

Marinos G, Naoumov NV, Rossol S, Torre F, Wong PY, Gallati H, Portmann B, Williams R (1995) Tumor necrosis factor receptors in patient with chronic Hepatitis B Virus infektion. *Gastroenterology* 108:1453-1463.

Martinez OM, Krams SM, Sterneck M, Villanueva JC, Falco DA, Ferrell LD, Lake J, Roberts JP, Ascher NL (1992) Intragraft cytokine profile during human liver allograft rejection. *Transplantation* 52: 449-456.

McInnes IB, Al-Mughales J, Field M, Field M, Leung BP, Huang FP, Dixon R, Sturrock RD, Wilkinson PC, Liew F (1996) The role of IL-15 in T-cell migration and activation in rheumatoid arthritis. *Nature Medicine* 2: 175-182.

Michalopoulos GK, Zarnegar R (1992) Hepatocyte Growth Factor. *Hepatology* 15 (1): 149-155.

Miki C, Iriyama K, Strain A, Harrison JD, Hirono S, Gunson BK, Sherwell JM, Suzuki H, McMaster P (1996) Clinical significance of serum heparocyte growth factor in orthotopic liver transplantation. *Surgery* 119: 505-10.

Miller LC, Lynch EA, Isa S (1993) Balance of synovial fluid IL-1β and IL-1 receptor antagonist and recovery from Lyme arthritis. *Lancet* 341: 146.

Moore KW, O´Garra A, de Waal Malefyt R, Vieira P, Mosmann TR (1993) Interleukin-10. *Annu Rev Immunol* 11:165-190.

Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffma RL, O´Garra S (2001) Interleukin-10 and the interleukin10 receptor. *Annu Rev Immunol* 19: 683-765.

Mueller AR, Platz KP, Haak M, Undi H, Müller C, Köttgen E, Weidemann H, Neuhaus P (1996) The relase of cytokines, adhesoion molecules, and extracellular matrix parameters during and after reperfusion in human liver transplantation. *Transplantation* 62 (8): 1118-1126.

Nagaike M, Hirao S, Tajima H, Noji S, Taniguchi S, Matsumoto K, Nakamura T (1991) Renotropic functions of hepatocyte growth factor in renal regeneration after unilateral nephrectomy. *J Biol Chem* 266: 22781.

Navasa M, Follo A, Filella, Jimenez W, Francitorra A, Planas R, Rimola A, Arroyo V, Rodes J (1998) Tumor necrosis factor and interleukin-6 in spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis: Relationship with the development of renal impairment and mortality. *Hepatology* 27 (5): 1227-1232.

Oellerich M, Hartmann H, Ringe B, Burdelski M, Lautz HU, Pichelmayr R (1993) Assessment of prognosis in transplant candidates by use of the Pugh-MEGX score. *Transplant Proc* 25 (1): 1116-1119.

Oldhafer KJ, Bornscheuer A, Frühauf NR, Freke MK, Schlitt HJ, Ringe, B, Raab R, Pichelmayr R (1999) Rescue Hepatectomy for initial graft non-function after liver transplantation. *Transplantation* 67 (15): 1024-1028.

Oliveira G, Xavier P, Mendes A, Guerra LE (1997) Cultures of aspiration biopsy specimens in the immunolgical monitoring of renal transplants. *Nephron* 76: 310-314.

Otte J-B (1999) Auxiliary partial orthotopic liver transplantion for acute liver failure in children. *Pediatr Transplantation* 3:252-256.

Ozawa A, Konishi F, Nagai H, Okada M, Kanazawa K (2000) Cytokine and hormonal responses in laparoscopic-assistes colectomy and conventional open colectomy. *Surg Today* 30: 107-111.

Platz KP, Mueller AR, Roissaint R, Steinmüller T, Lemmens HP, Lobeck H, Neuhaus P (1993) Cytokine pattern during rejektion and infektion after liver transplantation-improvemants in postoperative monitoring? *Transplantation* 62: 1441-1450.

Ploeg RJ, Dálessandro AM, Knechtle SJ, Stegall MD, Pirsch JD, Hoffmann RM, Sasaki T, Sollinger HW, Belzer FO, Kalayoglu M (1993) Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation-a multivariate analysis. *Transplantation* 55: 807-813.

Powrie F, Menon S, Coffman RL (1993) Interleukin-4 and Interleukin-10 synergize to inhibit cell-mediated immunity in vivo. *Eur J Immunol* 23 (9): 2223-2229.

Pruimboom WM, Dijk AP, Bonta IL, Wilson JHP, Zijlstra FJ (1994) Produktion of inflammatory mediators by human macrophages obtained from ascites. *Prostaglandin Leukot Essent Fatty Acids* 50: 183-192.

Pruimboom WM, Bac DJ, Dijk AP,Garrelds IM, Tak CJ, Bonta IL, Wilson JHP, Zijlstra FJ (1995) Levels of soluble intercellular adhesion molecule 1, eicosanoids and cytokines in ascites of patient with liver cirrhosis, peritoneal cancer and spontaneous bacterial peritonitis. *Int J Immunopharmacol* 17 (5): 375-384.

Rodriguez-Ramos C, Galan F, Diaz F, Elvira J, Martin-Herrera L, Giron-Gonzalez JA (2001) Expression of proinflammatory cytokines and their inhibitors during the course of spontaneous bacterial peritonitis. *Dig Dis Sci* 46 (8): 1668-1676.

Rogiers X, Malago M, Habib N, Knoefel WT, Pothmann W, Burdelski M, Meyer-Moldenhauer WH, Broelsch CE (1995) In situ splitting of the liver in the heart-beating cadaveric organ donor for transplantation in two Recipients. *Transplantation* 59 (8): 1081-1083.

Rogiers X, Malago M, Gaward K, Jyuch KW, Olausson M, Knoefel WT, Gundlach M, Bassas D, Fischer L, Sterneck M, Burdelski M, Broelsch CE (1996) In situ splitting of cadaveric livers: The ultimate expansion of a limited donor pool. *Ann Surg* 224 (3): 331-341.

Sakamoto K, Arakawa H, Mita S, Ishiko T, Ikei S, EgamiH, Hisano S, Ogawa M (1994) Elevation of circulating interleukin 6 after surgery: factors influencing the serum level. *Cytokine* 6: 181-186.

Sautner T Függer R, Götzinger P, Mittlböck M, Winkler S, Roth E, Steininger R, Mühlbacher F (1995) Tumor necrosis factor-a and interleukin-6: Early indicator of bacterial infektion after human orthotopic liver transplantation. *Eur J Surg* 161:97-101.

Schuster H-P (1996) Abriss der Pathophysiologie als Grundlage der Therapie. In: Schuster H-P (ed.) Intensivtherapie bei Sepsis und Multiorganversagen. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Vol 5, pp 23-42.

Shirwan H, Barwari L, Khan NS (1999) Predominant expression of T helper 2 cytokines and altered expression of T helper 1 cytokines in longterm allograft survival induced by intrathymic immune modulation with donor class I major histocompatibility complex peptides. *Transplantation* 66 (12); 1802-1809.

Simpson MA, Young-Fadok T, Madras PN, Freeman RB, Dempsey RA, Jenkins RL, Monaco AP (1991) Sequential IL-2 and IL-2R levels predict rejektion in liver allograft recipients. *Transplant Proc* 23: 13432-1433.

Soulillou JP (1993) Cytokines and Transplantation. *Transplant Proc* 25 (1): 106-108.

Straehler M, Hammer C, Meiser B, Fürst H, Reichert B, Schildberg FW (1997) Differential diagnostic of acute rejection and infection with procalcitonin and cytokines. *Langenbecks Arch Chir*: 205-209.

Straehler M, Überfuhr P, Reichert B, Hammer C (1997) Differential diagnosis of acute rejections and infections in heart transplanted patients: New ways using cytokines and prolalcitonin as markers. *Transplantationsmedizin* 9: 44-50.

Strasberg SM, Howard TK, Molmenti EP, Hertl M (1994) Selecting the donor liver: Risk factors for poor function after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 20 (4): 829-838.

Suehiro T, Boros P, Sheiner P, Tarcsafalvi A, Varma S, Emre S, Guy S, Schwartz M, Miller CM (1997) Perioperative hepatocyte growth factor levels and early graft function in clinical liver transplantation. *Transplant Proc* 29:382-383.

Sunder-Plassmann G, Stockenhuber F, Balcke P (1988) Serum interleukin 2 activity in renal graft recipients. *Transplant Proc* 20 (3): 387-9.

Symington FW, Symington BE, Liu PY, Viguet H, Santhanam U, Sehgal P (1990) Serum Tumor Necrosis Factor alpha associated with acute graft-versus-host disease in humans. *Transplantation* 50: 518-521.

Takada S, Namiki M, Takahara S, Matsumiya K, Kondoh N, Kokado Y, Matsumoto K, Nakamura T, Okuyama A (1996) Serum HGF levels in acute renal rejection after living related transplantation. *Transpl Int* 9: 151-154.

Teppo AM, Honkanen, Ahonen J, Grönhagen-Riska C (1998) Does increased urinary interleukin-1 receptor antagonist/interleukin-1b ratio indicate good prognosis in renal transplant recipients? *Transplantation* 66 (8): 1009-1014.

Theze J, Alzari PM, Bertoglio J (1996) Interleukin-2 and its receptors: recent advances and new immunological functions. *Immunol Today* 17: 481.

Tilg H, Vogel W, Aulitzky E, Herold M, Königsrainer, Margreiter R, Huber C (1990) Evaluation of cytokines and cytokine-induced secondary messages in sera of patients after liver transplantation. *Transplantation* 49: 1074-1080.

Tilg H, Nordberg J, Vogel W, Luger TA, Herold M, Aulitzky WE, Margreiter R, Huber C (1992) Circulating serum levels of interleukin 6 and c-reactive protein after liver transplantation. *Transplantation* 54 (1): 142-146.

Tilg H, Dinarello CA, Mier JW (1997) IL-6 and APPs: Anti-inflammatory and immunsuppressive mediators. *Immunol Today* 18 (9): 428-432.

Umeshita K, Monden M, Tono T, Hasuike Y, Kani T, Gotoh M, Moti T, Shaked A, Busuttil R (1996) Determination of the presence of IL-6 in bile after orthotopic liver trandplantation. *Ann Surg* 223 (2): 204-211.

Van Deventer SJ, Buller HR, Ten Cate JW, Aarden LA, Hack CE, Sturk A (1990) Experimental endotoxemia in humans: Analysis of cytokine release and coagulation, fibrinolytic and complement pathways. *Blood* 76: 2520-2526.

Van der Werf WJ, D`Alessandro AM, Knechtle SJ, Pilli G, Hoffmann RM, Judd RH, Odorico JS, Kirk AD, Rayhill SC, Soilinger HW, Kalayoglu M (1998) Infant pediatric liver transplantation results equal those for older pediatric patients. *J Pediatr Surg* 33 (1): 20-23.

Van Zee KJ, Kohno T, Fischer E, Rock CS, Moldawer LL, Lowry SF (1992) Tumor necrosis factor soluble receptors circulate during experimental and clinical

inflammation and can protect against excessiv tumor necrosis factor aplha in virto and vivo. *Proc Natl Acad Sci* 89 (11): 4845-9.

Wissing M, Donckier V, Delvaux A, Abramowicz, Gerard C, Velu C, Goldman M (1994) Effects of interleukin-10 on the immunoactivating and immunosuppressive properties of anti-CD3 monoclonal antibody. *Transplant Proc* 26 (6): 3167-3168.

Yamaguchi K, Nalesnik MA, Michalopoulos GK (1996) Expression of HGF mRNA in human rejection kidney as evidenced by in situ hybridization. *Urol Res* 24: 349-354.

Yamaguchi Y (1997) Enhanced expression of cytokine-induced neutrophil chemoattractant in rat hepatic allografts during acute rejection. *Hepatology* 26 (6): 1546-1552.

Yanagita K, Matsumoto K, Sekiguchi K, Ishibashi H, Niho Y, Nakamura T (1993) Hepatocyte growth factor may act as a pulmotrophic factor on lung regeneration after acute lung injury. *Am J Physiol* 265: F61.

Yssel H, De Waal Malefyt R, Roncarolo MG, Abrams JS, Lahesmaa R, Spits H, De Vries JE (1992) IL-10 is produced by subset of human CD4+ T cell clones and peripheral blood T cell. *J Immunol* 149 (7): 2378-2384.

Zarnegar R, Michalopoulos GK (1995) The many faces of hepatocyte growth factor: from hepatopoiesis to hematopoiesis. *Cell Biol* 129 (5): 1177-80.

Zeni F, Tardy B, Vindimian M, Comtet C, Page Y, Cusey I, Bertraud J-C (1993) High levels of tumor necrosis factor-a and interleukin-6 in the ascites fluid of cirrhotic with spontaneous bacterial peritonitis. *Clin Infect Dis* 17: 218-23.

8 Danksagung

Es ist mir ein Bedürfnis an dieser Stelle Prof. Dr. med. Martin Burdelski, Oberarzt der Pädiatrie des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, für die Überlassung des Themas und all der gewährten Unterstützung aufrichtig zu danken.

In gleichen Maße gilt mein ganz besonderer Dank PD Dr. Rainer Ganschow für die hervorragende Betreuung und Unterstützung während der letzten Jahre.

Für die Einarbeitung in das immunologische Arbeitswesen und die gute Zusammenarbeit im Labor möchte ich mich bei Frau Jutta Gieseking bedanken.

Lebenslauf

Name:	Britta Baade
Geburtsdatum:	23.02.1971
Geburtsort:	Hamburg
Anschrift:	Klosbachstr. 10, 8032 Zürich, Schweiz

1977-1981	Grundschule Max-Eichholz-Ring
1981-1984	Gymnasium Bornbrook, Hamburg
1984-1985	Nordsee-Gymnasium St.Peter-Ording
1985-1991	Gymnasium Bornbrook, Hamburg

1992 bis 1993	Studium der Chemie an der Universität Hamburg
1993 bis 2000	Studium der Medizin an der Universität Hamburg
	Famulaturen
	02-03/1996 Innere Medizin, AK Altona Hamburg
	02-03/1997 Pädiatrie, Maui Memorial Hospital, Hawaii, U.S.A.
	07-08/1997 Augenheilkunde, UKE Hamburg
	09/1997 Chirurgie, Hospital Universitario, Leon, Nicaragua
	07-08/1998 Gynäkologie Krankenhaus Elim, Hamburg
	Praktisches Jahr (von April 1999- April 2000)
	Innere Medizin: AK Altona, Hamburg
	Chirurgie: UKE, Hamburg
	Pädiatrie: UKE, Hamburg

07/2000-12/2001	Ärztin im Praktikum: Kinderchirurgie, Universitätsklinikum Lübeck
01/2002-04/2002	Assistenzärztin: Kinderchirurgie, Universitätsklinikum Lübeck
07/2002-06/2003	Assistenzärztin: Kinderchirurgie, Kinderspital Zürich, Schweiz

Zürich, 4.11.2003

Publikation

R. Ganschow, B. Baade, H. H. Hellwege, D. C. Broering, X. Rogiers and M. Burdelski (2000) Interleukin-1 receptor antagonist in ascites indicates acute graft rejection after pediatric liver transplantation. Pediatric Transplantation 2000; 4: 289-292.

Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfaßt, andere als die von mir angegeben Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.