

**Zelltodmarker M30 und M65 bei Patienten mit
portaler Hypertension und Anlage eines
transjugulären intrahepatischen
portosystemischen Shunts**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Medizin (Dr. med.)
an der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von
Beatrice-Victoria Jahn
aus
Rathenow

2024

Betreuer:in / Gutachter:in der Dissertation: PD Dr. Johannes Kluwe

Gutachter:in der Dissertation: Prof. Dr. Lutz Fischer

Vorsitz der Prüfungskommission: Prof. Dr. Lutz Fischer

Mitglied der Prüfungskommission: PD Dr. Andrea Hinsch

Mitglied der Prüfungskommission: PD Dr. Maximilian Christopeit

Datum der mündlichen Prüfung: 18.09.2025

Inhaltsverzeichnis

1. Arbeitshypothese und Fragestellung.....	6
2. Einleitung	7
2.1. Leberzirrhose.....	7
2.1.1. Hintergrund.....	7
2.1.2. Diagnostik.....	8
2.2. Portale Hypertension	11
2.2.1. Definition	11
2.2.2. Pathophysiologie der portalen Hypertension	12
2.2.3. Komplikationen	14
2.2.4. Therapie der portalen Hypertension	17
2.3. Transjugulärer intrahepatischer portosystemischer Shunt (TIPS).....	18
2.3.1. Historie	19
2.3.2. Verfahren.....	19
2.3.3. Indikationen und Kontraindikationen.....	20
2.3.4. Komplikationen und Prädiktoren.....	21
2.4. Zelltodmarker M30 und M65	22
2.4.1. Apoptose und Nekrose	23
2.4.2. ELISA (Grundprinzip)	25
2.4.3. Assoziation von M30 und M65 mit verschiedenen Lebererkrankungen.....	26
3. Material und Methoden.....	30
3.1. Material.....	30
3.1.1. Probenverarbeitung und Probensammlung	30
3.1.2. ELISA	30
3.1.3. Software	31
3.2. Methoden.....	31
3.2.1. Studiendesign und Patientenkollektiv	31
3.2.1.1. Einschluss- und Ausschlusskriterien	32
3.2.1.2. Patientenrekrutierung und Datenakquise	32
3.2.2. Labortechnische Analyse	35

3.2.2.1. Probenverarbeitung.....	35
3.2.2.2. ELISA.....	35
3.2.3. Statistische Auswertung	35
4. Ergebnisse	37
4.1. Patientencharakteristika.....	37
4.2. Vergleich Zelltodmarker bei Patienten mit kompensierter und dekompensierter Leberzirrhose.....	41
4.3. Nachweis von M30 und M65 in den verschiedenen Kompartimenten	42
4.4. Einfluss der TIPS-Anlage auf den Zelltod bei Patienten mit dekompensierter Leberzirrhose	44
4.5. Zelltodmarker M30 und M65 bei Patienten mit kompensierter Leberzirrhose und Patienten nach TIPS-Anlage	47
4.6. Responder und Non-Responder	50
4.7. Korrelationsanalysen	58
4.7.1. TIPS-Kohorte.....	58
4.7.2. Responder und Non-Responder.....	60
4.8. Prädiktionsmodell TIPS-Ansprechen	64
5. Diskussion.....	67
5.1. Assoziation der Zelltodmarker M30 und M65 mit portaler Hypertension....	68
5.2. Assoziation der Zelltodmarker M30 und M65 mit dem TIPS-Ansprechen..	73
5.2.1. Prädiktionsmodell M30/M65	77
6. Fazit und Ausblick	79
7. Zusammenfassung	83
8. Literaturverzeichnis.....	85
9. Abkürzungsverzeichnis.....	97
10. Abbildungsverzeichnis.....	100
11. Tabellenverzeichnis.....	102

12. Veröffentlichungen	103
13. Erklärung des Eigenanteils.....	104
14. Eidesstattliche Versicherung.....	105
15. Danksagung	106

1. Arbeitshypothese und Fragestellung

Schwerwiegende Folgen einer Leberzirrhose sind die Entwicklung einer Leberinsuffizienz und einer portalen Hypertension (PH) (Ge und Runyon 2016). Eine effektive und sichere Therapie der PH und ihrer Komplikationen stellt die Anlage eines transjugulären intrahepatischen portosystemischen Shunts (TIPS) dar (Grandt et al. 2004). Bei der Diagnostik, Klassifizierung aber auch als Prognosemarker von akuten und chronischen Lebererkrankungen spielen die Zelltodmarker M30 und M65 eine entscheidende Rolle (Bissonnette et al. 2017, Mueller et al. 2017, Macdonald et al. 2018). Aus diesem Grund liegt das Augenmerk dieser Doktorarbeit auf der Rolle der Apoptose- und Nekrosemarker M30 und M65 bei Patienten mit PH und TIPS-Anlage. Hierbei werden folgende Arbeitshypothesen formuliert: a) Es besteht ein Circulus vitiosus zwischen der PH, dem hepatischen Zelluntergang und dem Fortschreiten der Leberfibrose. Der erhöhte transhepatische Druck im Rahmen der PH führt zu einer Schädigung der Leber, welche sich durch eine erhöhte Zelltoderate abbildet. Dieser vermehrte Zelltod, aggraviert die Leberfibrose. Die Verschlechterung der Leberfibrose fördert die PH und das Auftreten einer Dekompensation, b) Die Korrektur der PH mittels TIPS führt zu einem Absinken der Zelltodmarker und c) Patienten mit einem fortgeschrittenen beziehungsweise schwereren Leberschaden weisen ein schlechteres TIPS-Ansprechen auf. Die Höhe der Zelltodmarker ist mit dem klinischen Ansprechen auf die TIPS-Implantation assoziiert.

Die serologische Untersuchung von M30 und M65 vor der TIPS-Anlage, in den leberrelevanten Kompartimenten und im longitudinalen Verlauf soll zur Überprüfung der oben genannten Hypothesen und Klärung folgender Fragestellungen dienen: (1) Wie verhalten sich die Plasmakonzentrationen von M30 und M65 bei Patienten mit PH, insbesondere im Vergleich zu Patienten mit kompensierter Leberzirrhose? (2) Liegen Konzentrationsunterschiede von M30 und M65 zwischen den einzelnen Kompartimenten (peripheres Blut, Lebervene und Pfortader) vor? (3) Inwiefern beeinflusst die Reduktion der PH im Rahmen der TIPS-Anlage die Konzentration von M30 und M65? (4) Liegt ein Zusammenhang zwischen dem TIPS-Ansprechen und der Zelltodmarkerkonzentration vor? (5) Können M30 und M65 als prädiktive Marker für das TIPS-Ansprechen dienen?

2. Einleitung

2.1. Leberzirrhose

Die Leberzirrhose, deren Begriff im Jahre 1819 von Rene Laennec aus den griechischen Wörtern *Skirros* (hart) und *Kirrhos* (gelb) eingeführt wurde, ist das Endstadium vieler verschiedener chronischer Lebererkrankungen. In Deutschland leiden etwa eine Million Menschen an einer Leberzirrhose (Sauerbruch et al. 2013, Balducci et al. 2016).

Die Weltgesundheitsorganisation definierte 2017: „*Cirrhosis is a diffuse process characterized by fibrosis and the conversion of normal liver architecture into structurally abnormal nodules that lack normal lobular organization.*“ (Friedman und Martin 2017)

Typische Vorgänge bei einer Leberzirrhose sind die Degeneration, Apoptose und Nekrose von Hepatozyten, das Ausbilden von fibrösen Septen, ein knotiger Umbau des Leberparenchyms, eine erhöhte Zellaktivität sowie Inflammation und Veränderungen im Gefäßbett (Sauerbruch et al. 2013). Die Verdrängung von Hepatozyten durch fibrotisches Gewebe führt zum Funktionsverlust der Leber (Zhou et al. 2014). Die Entwicklung der Zirrhose kann langsam über Jahre und Jahrzehnte erfolgen (Wiegand und Berg 2013). Ein wichtiger Bestandteil in der kurativen Therapie der Leberzirrhose ist die Lebertransplantation (Schuppan und Afdhal 2008). Trotzdem können sowohl die Leberfibrose als auch die Leberzirrhose, insbesondere bei Patienten mit chronischer Hepatitis B Virus (HBV) und Hepatitis C Virus (HCV)-Infektion, durch eine antivirale Therapie reversibel sein beziehungsweise reduziert werden (Schuppan und Afdhal 2008, Jung und Yim 2017).

2.1.1. Hintergrund

Die Leberzirrhose und andere chronische Lebererkrankungen zeichnen sich durch eine zunehmende Inanspruchnahme des Gesundheitssystems mit weltweit über 2 Millionen Todesfälle pro Jahr aus (Moon et al. 2020). Aufgrund der hohen Inzidenz, der Schwere der Erkrankung und der begrenzten Therapiemöglichkeiten gehört die

Leberzirrhose zu den zwanzig häufigsten Todesursachen in Deutschland (Wiegand und Berg 2013).

Die Ursachen der Leberzirrhose sind vielfältig. Zu den häufigsten Ursachen in Deutschland gehören die alkoholische Lebererkrankung (engl. alcohol-related liver disease, ALD), die nichtalkoholische Fettlebererkrankung (engl. non-alcoholic liver disease, NAFLD) sowie die chronische HBV und HCV Infektion (Wiegand und Berg 2013). Weitere Ursachen einer Leberzirrhose sind: Autoimmunhepatitis (AIH), Morbus Wilson, Hämochromatose, primär biliäre Cholangitis, primär sklerosierende Cholangitis sowie α 1-Antitrypsinmangel (Karkmann et al. 2018). Aufgrund der Zunahme des metabolischen Syndroms und des Alkoholabusus innerhalb der deutschen Bevölkerung gewinnt sowohl die ALD als auch die NAFLD bei der Entstehung der Leberzirrhose und den einhergehenden Komplikationen zunehmend an Bedeutung (Karkmann et al. 2018).

2.1.2. Diagnostik

In frühen Stadien zeigt sich die Leberzirrhose häufig klinisch asymptomatisch (Peng et al. 2016). Aus diesem Grund wird sie bei einer Vielzahl der Patienten erst diagnostiziert, wenn es bereits zum Auftreten von Komplikationen kommt (Gross 2015). Zur Diagnostik dienen zum einen die Anamnese mit den relevanten Risikofaktoren wie Alkoholkonsum, metabolisches Syndrom, Einnahme von hepatotoxischen Substanzen oder Infektion mit HCV oder HBV (Wiegand und Berg 2013). Zum anderen können bei der klinischen Untersuchung Allgemeinsymptome wie Müdigkeit und Muskelschwund (Schuppan und Afdhal 2008) sowie die typischen Leberhautzeichen wie ein Palmarerythem oder Spider naevi auf eine Leberzirrhose hinweisen (Friedman und Martin 2017). Hinweise für eine verminderte Syntheseleistung der Leber in der klinischen Chemie sind eine Erhöhung der International Normalized Ratio (INR) sowie eine Abnahme des Albumins (Wiegand und Berg 2013). Die Leber dient zur Synthese von vielen verschiedenen pro- und antikoagulatorischen Faktoren. Im Rahmen einer Leberzirrhose entsteht ein Ungleichgewicht des Gerinnungssystems, welches sich laborchemisch in einer Erhöhung der INR zeigen kann. Dies lässt zunächst auf eine erhöhte Blutungsneigung schließen. Dennoch weisen Patienten mit einer

Leberzirrhose paradoxerweise ein erhöhtes Risiko für thromboembolische Ereignisse auf (Harrison 2018). Eine Erhöhung der Transaminasen Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) ist ein laborchemisches Zeichen für eine Leberzellschädigung (Schuppan und Afdhal 2008).

Als günstiges, schnell verfügbares und nicht-invasives diagnostisches Mittel dient die Oberbauchsonographie zur bildlichen Darstellung der Leber und deren Parenchymveränderungen (Karkmann et al. 2018). Des Weiteren können eine Splenomegalie, Aszites und sichtbare Kollateralkreisläufe sonographisch auf eine PH deuten. Zusätzlich dient die Sonographie zur differentialdiagnostischen Abklärung eines hepatozellulären Karzinoms (HCC) (Schuppan und Afdhal 2008, Soresi et al. 2014). Der Goldstandard zur Diagnostik der Leberzirrhose ist die Biopsie, welche in der Regel perkutan, jedoch auch laparoskopisch oder angiographisch transjugulär durchgeführt werden kann. Aufgrund des erhöhten Komplikationsrisikos wird die Leberbiopsie hauptsächlich bei unklarer Genese sowie zur Bestimmung der inflammatorischen Aktivität und des Fibrosestadiums angewendet (Karkmann et al. 2018). Zur nicht-invasiven Diagnostik der Leberfibrose dienen unter anderem die transiente Elastographie (TE) mittels Fibroscan, der AST/Thrombozyten-Ratio Index (APRI) und der Fibrose-Score 4 (Fib-4). Durch die fibrotische Umwandlung des Lebergewebes steigt die Steifigkeit der Leber, welche mit Hilfe der TE innerhalb kürzester Zeit und mit geringem Aufwand elastographisch beurteilt werden kann. Hierbei sendet die Ultraschallsonde eine Scherwelle aus, deren Ausbreitung und Geschwindigkeit gemessen wird, wobei Werte zwischen 2,5 und 7,0 kPa für eine gesunde Leber bis geringes Fibrosestadium sprechen und Werte ab 12,5 kPa typisch für eine Leberzirrhose sind (Castera et al. 2008). Des Weiteren entwickelten Wai et al. 2003 den APRI, welcher durch die Laborbestimmung von GOT und Thrombozytenzahl eine Fibrose sowie Leberzirrhose beim Patienten vorhersagen kann (Wai et al. 2003). Ein weiterer Score aus Laborparametern ist der Fib-4, welcher aus Alter, GOT, GPT und Thrombozytenzahl berechnet wird (Bhat et al. 2017).

Der Verlauf der Leberzirrhose ist bei jedem Patienten unterschiedlich und von verschiedenen Faktoren abhängig. Hierbei spielen die Ursache, das Ausmaß des

fibrotischen Umbaus, das Auftreten von Komplikationen sowie Komorbiditäten eine entscheidende Rolle (Romanelli und Stasi 2016). Zur Prognoseabschätzung von Patienten mit einer Leberzirrhose dienen zum einen der *Child-Pugh-Score* (CPS) und der *Model for end-stage liver disease* (MELD) *Score*. Aufgrund der erhöhten Mortalität von Patienten mit einer dekompensierten Leberzirrhose, welche mit dem Auftreten von schwerwiegenden Komplikationen assoziiert ist, sind sowohl CPS als auch MELD-Score wichtig, um Patienten mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko zu identifizieren (Peng et al. 2016).

Child und Turcotte entwickelten zunächst den CPS, um das operative Risiko von Patienten, die einen portosystemischen Shunt bei Varizenblutungen erhielten, vorherzusagen (Child und Turcotte 1964). Heute dient der CPS zur klinischen Einschätzung der Schwere der Leberzirrhose und besteht aus folgenden Komponenten: INR, Albumin, Bilirubin, Nachweis einer hepatischen Enzephalopathie (HE) und Aszites im Ultraschall (Gross 2015). Jedes Kriterium wird mit ein bis drei Punkten klassifiziert, sodass der CPS zwischen fünf und fünfzehn Punkten variieren kann. Die Einteilung des CPS erfolgt in drei Stadien: A (fünf und sechs Punkte), B (sieben bis neun Punkte) und C (zehn bis fünfzehn Punkte) (Gross 2015), wobei Patienten mit einem CPS C eine erhöhte Mortalitätsrate aufweisen (Strunk und Marinova 2018).

Um das Überleben von Patienten vorherzusagen, die aufgrund einer PH einen TIPS erhalten, wurde der MELD-Score entwickelt. Dieser berechnet sich aus Bilirubin, Kreatinin und INR (Peng et al. 2016). Um das erhöhte Risiko einer Hyponatriämie einzubeziehen, kann das Serum-Natrium mit in die Berechnung berücksichtigt werden, was als MELD-Na Score bezeichnet wird (Martin und O'Brien 2015). Ein MELD-Score über achtzehn ist mit einer signifikant erhöhten Dreimonatsmortalität assoziiert (Rossle 2013). Heute dient der MELD-Score überwiegend zur Priorisierung von Patienten, die für eine Lebertransplantation gelistet werden (Peng et al. 2016).

Zur Identifizierung von weiteren Prädiktoren für einen schwerwiegenden Verlauf der Leberzirrhose wurden weitere Scores in den vergangenen Jahren entwickelt und evaluiert. Der *CLIF Consortium Acute Decompensation Score* (CLIF-C AD Score)

wurde zur Berechnung der Prognose von hospitalisierten Patienten mit einer akuten Dekompensation der Leberzirrhose ohne akut-auf-chronischem Leberversagen entwickelt und besteht aus folgenden Komponenten: Alter, Leukozytenzahl, Kreatinin, INR und Serum-Natrium (Jalan et al. 2015). Neben der bereits erwähnten Assoziation eines hohen MELD-Scores beziehungsweise eines CPS C mit der Mortalitätsrate, veranschaulichen diese Werte ebenfalls die Schwere einer Lebererkrankung (Strunk und Marinova 2018). Auch der CLIF-C AD Score ist in der Prognose der Mortalität von Patienten mit einer dekompensierten Leberzirrhose von Bedeutung (Jalan et al. 2015).

2.2. Portale Hypertension

Die gefährlichsten und lebensbedrohlichsten Komplikationen einer Leberzirrhose sind häufig durch eine PH bedingt. Bei der zirrhotisch bedingten PH spielen verschiedene Mechanismen eine Rolle. Zum einen führt die strukturelle Veränderung der zirrhotischen Leber zu einem Anstieg des vaskulären Widerstandes. Zum anderen kommt es zu einer hämodynamischen Dysregulation im Splanchnikusgebiet (Rossle und Gerbes 2010).

2.2.1. Definition

Als eine Folge des zirrhotischen Leberumbaus zeichnet sich die PH durch einen erhöhten portalen Venendruck aus. Durch die Notwendigkeit einer invasiven aufwendigen direkten Kanülierung der Portalvene stellt sich die direkte Messung des portalen Venendrucks als schwierig dar (Simonetto et al. 2019). Aus diesem Grund dient indirekt die Messung des hepatisch-venösen Druckgradienten (engl. hepatic-venous pressure gradient, HVPG) zur einfacheren Bestimmung des portalen Venendrucks. Dieser berechnet sich aus dem freien hepatischen Venendruck (engl. free hepatic venous pressure, FHVP), der in der Lebervene gemessen wird, subtrahiert mit dem Lebervenenverschlussdruck (engl. wedged hepatic vein pressure, WHVP), der nach dem Aufblasen eines Ballonkatheters in der Lebervene bestimmt wird (Leung et al. 2018). Dennoch ist die HVPG-Messung eine invasive Methode, welche nur in Krankenhäusern mit ausreichender Expertise durchgeführt werden kann (Lee 2017). Daher ist die Entwicklung von nicht-invasiven

Methoden und Biomarkern zur Vorhersage und Verlaufskontrolle einer PH ein wichtiger Gegenstand derzeitiger Forschungen.

Ein HVPg über 5 mmHg zeigt eine präklinische PH an. Ein HVPg ab 10 mmHg definiert die klinisch signifikante PH (engl. clinically significant portal hypertension, CSPH) und korreliert mit dem Auftreten von Komplikationen wie Aszites, HE, Splenomegalie und Varizenblutungen (Simonetto et al. 2019). Während bei der präklinischen Form das Augenmerk der Therapie auf der Ursachenbehebung und Veränderungen des Lifestyles liegt, sind bei der CSPH häufig Nicht-selektive Betablocker (NSBB) indiziert (Bosch und Iwakiri 2018).

2.2.2. Pathophysiologie der portalen Hypertension

Verschiedene chronische Lebererkrankungen können zu einer PH führen. Zur Unterscheidung der Ursachen einer PH unterteilt man diese je nach anatomischer Lage in prä-, intra- und posthepatische Ursachen. Sowohl die alkoholische als auch die virusinduzierte Leberzirrhose sind intrahepatische sinusoidale Ursachen der PH. (Simonetto et al. 2019) Da diese Form der Leberzirrhose am häufigsten auftritt, wird deren Pathophysiologie im Folgenden betrachtet.

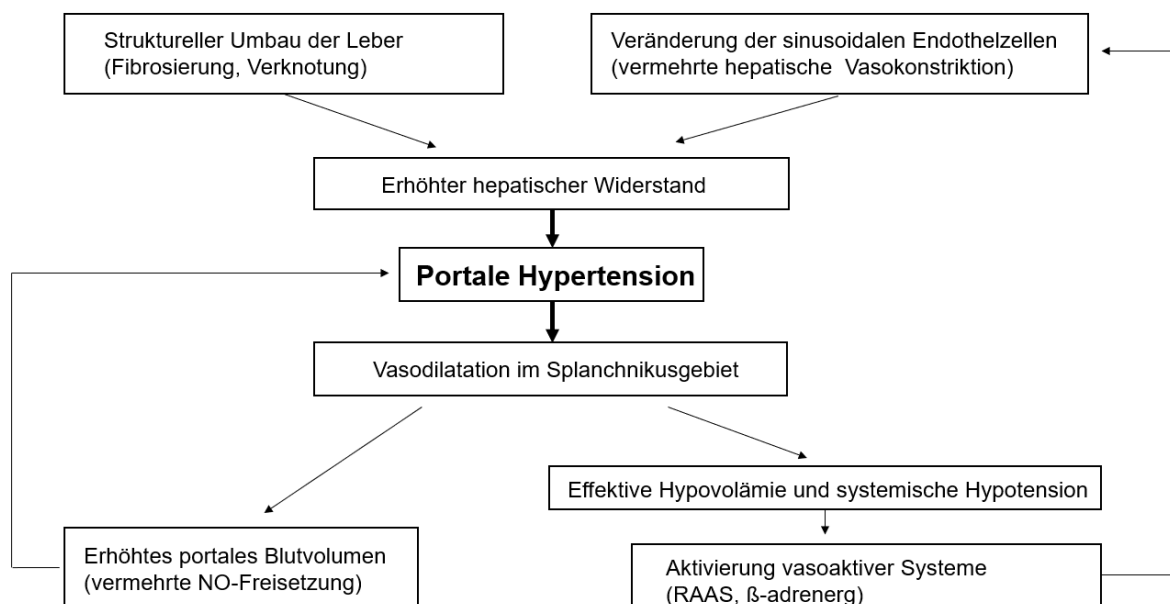


Abbildung 1: Pathophysiologie der portalen Hypertension nach (Bosch und Garcia-Pagan 2000)

Nach dem Ohm'schen Gesetz lässt sich der Zusammenhang zwischen dem Blutfluss (Q), dem Strömungswiderstand (R) im Gefäßbett und der Änderung des Pfortaderdrucks (ΔP) mit folgender Gleichung beschreiben: $\Delta P = Q \times R$ (Reiberger 2012). Somit führt eine Erhöhung des Strömungswiderstands oder ein vermehrter Blutfluss zu einem erhöhten Pfortaderdruck. Die Entstehung und Aufrechterhaltung der PH wird anhand zwei verschiedener Theorien diskutiert: Die *backward flow* und die *forward flow* Theorie (Okumura et al. 1989). Bei der *backward flow* Theorie ist die alleinige Widerstandserhöhung für die PH verantwortlich. Bei der *forward flow* Theorie führen ein verminderter Gefäßwiderstand im Splanchnikusgebiet und die Erhöhung des arteriellen splanchnischen Blutflusses durch vermehrten Zustrom zur Pfortader zur Aufrechterhaltung der PH. Nach derzeitigen Erkenntnissen spielt die Kombination beider Theorien eine Rolle bei der Pathophysiologie (Okumura et al. 1989). Bei der Leberzirrhose erhöht sich der intrahepatische Gefäßwiderstand zum einen aufgrund des strukturellen Umbaus der Leber durch Fibrosierung und Verknotung. Zum anderen kommt es beim Fortschreiten der Erkrankung zu einer Veränderung der sinusoidalen Endothelzellen, welche vermehrt Vasokonstriktoren (Endothelin) produzieren und weniger Vasodilatoren (Stickstoffmonoxid NO) freisetzen. Dies führt zu einer vermehrten Aktivierung von hepatischen Sternzellen, Myofibroblasten und glatten Gefäßmuskelzellen (Simonetto et al. 2019), wodurch es zu einer weiteren Erhöhung des hepatischen Widerstandes und des Pfortaderdruckes aufgrund von Fibrosierung und Freisetzung von Vasokonstriktoren kommt (*backward flow*-Komponente). Diese Widerstandserhöhung tritt vor allem zu Beginn der Erkrankung auf und führt zu einer kompensatorischen Vasodilatation im Splanchnikusgebiet, welche zu einer Erhöhung des portalen Blutflusses über eine vermehrte NO-Freisetzung führt (*forward flow*-Komponente) (Reiberger 2012).

Durch die PH entstehen portalsystemische Kollateralkreisläufe, die sich in Form von Varizen und Aszites klinisch äußern können. Weiterhin kommt es zu einer systemischen Hypotension und einer relativen renalen Hypoperfusion, die zu einer Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) führen. Durch die Aktivierung des RAAS und einer einhergehenden vermehrten Natrium- und Wasserretention steigt das systemische Volumen an. Des Weiteren führt die

systemische Hypotonie zu einer Aktivierung des β -adrenergen Systems und zu einer hyperdynamischen Zirkulation (Simonetto et al. 2019).

Neben der Niere kann auch die Milz durch die PH gestört werden. Aufgrund des erhöhten Drucks und des vermehrten Blutflusses kommt es zu einer Splenomegalie und somit zu einer Thrombozytopenie und Anämie mit erhöhter Blutungsneigung (Silbernagel 2019).

Wie zu Beginn des Absatzes beschrieben, fördern der strukturelle Umbau der Leber im Rahmen der Leberfibrose die Entstehung der PH. Verschiedene Studien konnten bereits den Zusammenhang zwischen erhöhten Zelltodmarker-Konzentrationen im Serum als auch dem HVPG und dem Auftreten einer akuten Dekompensation der Leberzirrhose sowie erhöhtem Risiko für einen letalen Verlauf belegen (Ripoll et al. 2007, Stoffers et al. 2022, Zhang et al. 2024). Inwiefern die PH das Leberparenchym schädigt und zum Fortschreiten der Fibrosierung und Leberzirrhose führt, welche im Rahmen eines Circulus vitiosus die PH aggraviert, ist derzeit unklar.

2.2.3. Komplikationen

Die in Kapitel 2.2.2 genannten möglichen Komplikationen einer PH zeigen, dass es sich bei der PH nicht nur um eine intrahepatische, sondern um eine systemische Erkrankung handelt. Neben der PH kann sich bei einem komplizierten Verlauf der Leberzirrhose eine Einschränkung der Leberfunktion oder ein HCC entwickeln (Schuppan und Afdhal 2008). Pro Jahr erkranken circa ein bis vier Prozent aller Patienten mit einer Leberzirrhose an einem HCC, wobei die Inzidenz innerhalb Europas und den USA stetig zunimmt (Moon et al. 2020). Um die Entstehung eines HCC frühzeitig zu erkennen, wird bei Patienten mit einer Leberzirrhose alle sechs Monate eine Sonographie der Leber empfohlen. Zusätzlich kann eine Messung des Alpha-1-Fetoproteins (AFP) erfolgen (Leitlinienprogramm Onkologie et al. 2022).

Bei einer Dekompensation der Leberzirrhose treten schwere Komplikationen wie Aszites, Varizenblutungen, spontane bakterielle Peritonitis (SPB) oder eine HE auf (Schuppan und Afdhal 2008), welche mit einer erhöhten Mortalität assoziiert sind. Der Verlauf ist abhängig von der Ursache und der Therapiemöglichkeiten dieser, wobei je nach Ätiologie die Dekompensationsrate pro Jahr zwischen 4 % und über

10 % variiert. Nach stattgehabter Dekompensation liegt die 5-Jahres-Sterblichkeitsrate der Patienten ohne Lebertransplantation bei bis zu 85 % (Schuppan und Afdhal 2008).

Der Aszites beschreibt eine vermehrte intraperitoneale Flüssigkeitsansammlung, die klinisch durch eine Bauchumfangsvermehrung auffällig wird. Hierbei kann der Aszites makroskopisch in verschiedene Formen eingeteilt werden, die einen Rückschluss auf die Ursache ziehen lässt. Hämorrhagischer Aszites kann auf maligne Prozesse, ein Trauma oder eine Pankreatitis hinweisen. Chylöser Aszites, welcher milchig-trüb erscheint, ist durch eine erhöhte Anzahl an Chylomikronen und Triglyceriden gekennzeichnet und tritt vor allem bei malignen Prozessen und bei der PH auf. (Gerbes et al. 2011)

Neben der Sonographie dient zur weiteren Diagnostik die Aszitespunktion, die sowohl bei jedem neu aufgetretenen Aszites als auch bei klinischer Verschlechterung erfolgen sollte. Hierbei werden die Zellzahl, die Zellarten sowie das Gesamteiweiß bestimmt (Gross 2015). Zusätzlich sollte bei jedem neudiagnostizierten Aszites eine mikrobiologische Kultur angelegt werden (Gerbes et al. 2011). Die Bestimmung des Serum-Aszites-Albumin-Gradienten (SAAG) kann zur Klärung der Ursache herangezogen werden. Ein SAAG über 1,1 g/dl deutet auf eine PH hin, wobei ein SAAG unter 1,1 g/dl eher für eine Entzündung oder Neoplasie spricht (Gross 2015).

Der durch eine Leberzirrhose bedingte Aszites entsteht durch folgende vier Mechanismen: (a) eine PH, die eine Hypervolämie in den Splanchnikusgefäßen verursacht (siehe 2.2.2), (b) eine vermehrte Lymphproduktion, (c) eine Verminderung des Albumins und eine damit verbundene Verminderung des kolloidosmotischen Drucks und (d) eine vermehrte Natriumrückresorption im proximalen Tubulus durch die gesteigerte Aktivierung des RAAS als Antwort auf die systemische Hypovolämie (siehe 2.2.2) (Henriksen et al. 1980) (Moller et al. 2008).

Mit einer Prävalenz von 3,5 % im ambulanten und einer Prävalenz von 8 – 36 % im stationären Bereich ist die spontan bakterielle Peritonitis (SBP) eine häufige Infektion bei Patienten mit einer Leberzirrhose. Hierbei kommt es zu einer Infektion des Aszites unter Ausschluss von anderen infektiösen Ursachen intraabdominell

(Gerbes et al. 2011). Diese liegt bei einer Zahl von > 500 kernhaltigen Zellen pro μl oder > 250 segmentkernigen Granulozyten pro μl vor und wird antibiotisch therapiert (Gross 2015). Die Mortalität nach einmaliger SBP bei hospitalisierten Patienten liegt bei circa 20 % (Garcia-Tsao 2001).

Neben der Ansammlung von Flüssigkeit im Bauchraum kann es bei der PH auch zu vermehrten Pleuraergüssen kommen, welche als Hydrothorax bezeichnet werden (Gross 2015).

Die bei der PH vermehrte Freisetzung von Vasodilatoren (siehe 2.2.2) und die darauffolgende Aktivierung des Sympathikus führt zu einer Verminderung des renalen Blutflusses und zur renalen Funktionseinschränkung. Diese Dysfunktion des Gefäßsystems führt zum Auftreten des Hepatorenalen Syndroms (HRS). Das HRS tritt immer zusammen mit Aszites und häufig mit einer Hyponatriämie auf (Acevedo und Cramp 2017). Mit einer Mortalität von 26 % ist das HRS eine bedeutende Komplikation (Gupta et al. 2021). Nach den neuesten Empfehlungen erfolgt die Einteilung des HRS anhand der Kriterien der akuten Niereninsuffizienz (engl. acute kidney injury, AKI) und der chronischen Nierenerkrankung (engl. chronic kidney disease, CKD). Die CKD ist definiert durch eine Abnahme der Glomerulären Filtrationsrate (GFR) und dem Nachweis einer Nierenparenchymschädigung für mindestens drei Monate. Die AKI zeichnet sich durch eine Erhöhung des Serumkreatinins von über 50 % innerhalb von sieben Tagen beziehungsweise einem Anstieg von 0,3 mg/dl innerhalb von 48 Stunden aus (European Association for the Study of the Liver 2018).

Neben den beschriebenen Komplikationen leiden Patienten mit einer Leberzirrhose häufig an einer HE. Die HE welche eine reversible Funktionseinschränkung des Gehirns beschreibt (Gairing et al. 2023). Die Klinik der HE ist vielfältig, da sowohl neurologische als auch psychologische Symptome auftreten können (Vilstrup et al. 2014). Die Einteilung der HE erfolgt in vier Stadien nach der West-Haven-Klassifikation. Ein wichtiges diagnostisches Mittel ist die Durchführung eines Zahlenverbindungstests (Gross 2015).

Durch den Anstieg des Pfortaderdruckes kommt es zur Ausbildung von Kollateralkreisläufen, welches sich in der Bildung von Ösophagus- und

Fundusvarizen zeigen kann. Blutungen aus diesen Varizen stellen eine lebensbedrohliche Gefahr für den Patienten dar (Lv et al. 2019). Aus diesem Grund sind die Diagnostik und Therapie sowie Prävention von Varizen und deren Blutungen ein wichtiger Bestandteil in der Versorgung von Patienten mit einer Leberzirrhose. Die Vorgehensweise orientiert sich anhand der aktuellen Baveno VII Kriterien. Bei allen Patienten, bei denen klinisch der Verdacht einer PH besteht, sollte eine medikamentöse Primärprophylaxe mit NSBB in Betracht gezogen werden. Die klinische Einschätzung erfolgt mithilfe der Lebersteifigkeit, der Thrombozytenzahl und des BMI. Beträgt die Lebersteifigkeit in der TE weniger als 16 kPa sowie die Thrombozytenzahl über 150.000 pro μl , ist das Vorliegen einer PH unwahrscheinlich. Bei erhöhten Werten in der TE und einer erniedrigten Thrombozytenzahl sowie bestehenden Kontraindikationen für eine NSBB-Therapie, erfolgt eine Gastroskopie zum Screening auf Varizen (De Franchis et al. 2022).

2.2.4. Therapie der portalen Hypertension

Wie bereits beschrieben, führt die PH zu schwerwiegenden Komplikationen der Leberzirrhose. Das Auftreten der Komplikationen ist mit einer erhöhten Mortalität assoziiert. Aus diesem Grund ist es umso wichtiger, den Pfortaderdruck zu senken, um das Entstehen und Wiederauftreten von schwerwiegenden Komplikationen zu verhindern. Eine Senkung des HVPG um 20 % des Ausgangswertes oder unter 12 mmHg ist mit einer signifikanten Senkung des Komplikationsrisikos (Simonetto et al. 2019) und der Mortalität (Leung et al. 2018) bei Patienten mit Leberzirrhose und PH assoziiert.

Aufgrund der dynamischen Komponenten der PH liegt der Ansatz der Arzneimitteltherapie bei der Regulierung der Vasodilatation und Vasokonstriktion. Die Vasokonstriktoren Vasopressin, Somatostatin und NSBB reduzieren den splanchnischen Blutfluss und führen somit zu einem verminderten portalen Blutfluss und zur Senkung des Pfortaderdrucks (Friedman und Martin 2017). NSBB wie Carvedilol, Propranolol und Nadolol blockieren β_2 -Rezeptoren und sind die primäre Therapie bei Patienten mit PH. Dabei ist Carvedilol durch die zusätzliche α -adrenerge Blockade und Senkung des intrahepatischen Widerstandes das bevorzugte Arzneimittel (Friedman und Martin 2017) (Turco et al. 2023).

Neuere Studien untersuchen den Nutzen der PH-Therapie vor dem Auftreten von Komplikationen. Villanueva et al. betrachteten in der PREDESCI Studie den Einfluss der NSBB-Therapie bei Patienten mit kompensierter Leberzirrhose und CSPH hinsichtlich des Auftretens einer Dekompensation. Hierbei wurde aufgezeigt, dass eine Langzeittherapie mit NSBB bei Patienten mit CSPH das dekompensationsfreie Überleben erhöht. Dies ist durch die reduzierte Entwicklung von Aszites begründet. (Villanueva et al. 2019). Die Therapie mit Carvedilol verbessert die Überlebenschancen und kann bei frühzeitiger Gabe eine Verschlechterung der Erkrankung (Dekompensation der Leberzirrhose bei CSPH) verhindern. Die Autoren folgern, dass Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose frühzeitig auf eine CSPH untersucht werden sollen, um Komplikationen medikamentös zu verhindern (Villanueva et al. 2022).

Trotz der Aktivierung des RAAS-Systems bei Patienten mit dekompenzierter Leberzirrhose führen AT1-Rezeptorantagonisten kaum zu einer Verringerung der PH und zusätzlich zu erheblichen Nebenwirkungen wie einer Niereninsuffizienz (Reiberger 2012). Im Gegensatz dazu zeigt die Veränderung des Lebensstils durch Diät und regelmäßiger Bewegung bei Patienten mit Übergewicht oder Fettleibigkeit unabhängig von der Ursache eine signifikante Reduktion der PH (Berzigotti et al. 2017).

Neben medikamentösen Therapieoptionen sind portosystemische Shunts bei der Therapie der PH sehr effektiv. Insbesondere der TIPS ist ein wichtiges Verfahren zur Senkung der PH. Bei Kontraindikationen für einen TIPS können portocavale, mesocavale und splenorenale shunts zur Pfortaderdrucksenkung chirurgisch angelegt werden (Simonetto et al. 2019).

2.3. Transjugulärer intrahepatischer portosystemischer Shunt (TIPS)

Ein effektives und nicht-operatives Verfahren zur Senkung der PH ist die Anlage eines TIPS. Hierbei erfolgt durch die Verbindung von einem Pfortaderast mit einer der drei Lebervenen oder der *Vena cava inferior* ein Seit-zu-Seit Shunt innerhalb des Leberparenchyms. (Grandt et al. 2004)

2.3.1. Historie

Am Anfang des 20. Jahrhunderts begannen die ersten Versuche zur Senkung des portalen Drucks und zur Therapie der assoziierten Komplikationen. Ösophagusvarizenblutungen wurden zunächst mit einem endoskopischen Ballon (Sengstaken und Blakemore 1950) oder mit einer endoskopischen Injektion von chininhaltiger Sklerosierungslösung versucht zu stoppen (Abby Philips und Sahney 2016). Diese Therapieformen verringerten jedoch nicht die PH. Mit der Annahme, dass die Versorgung der Leber über die Leberarterie ausreicht, wurden am Ende des 19. Jahrhunderts die ersten portosystemischen Shunts an Hunden untersucht, welche jedoch wenig Erfolg zeigten. In der Mitte des 20. Jahrhunderts begann Allan Whipple verschiedene Gefäßanastomosen zu untersuchen. Hierbei wurde der portocavale Shunt entwickelt (Whipple 1945). Dennoch zeigten die Patienten nach den Eingriffen eine erhöhte HE-Rate (Mc und Adams 1954). In den 1980er Jahren wurde die noch heute zur Therapie von Varizenblutungen genutzte Gummibandligatur entwickelt (Stiegmann et al. 1989).

Nach der Entwicklung von expandierbaren Metallstents durch Palmaz erfolgte 1988 die erste erfolgreiche Anlage eines TIPS an der Universität Freiburg. Zwar waren die ersten TIPS-Implantationen überwiegend erfolgreich, dennoch dauerte ein Eingriff bis zu acht Stunden. Erst mit der Einführung und Verbesserung der Sonographie-gesteuerten Punktionstechnik durch Jean Marc Perarnieu konnte die Dauer des Eingriffes auf ein bis zwei Stunden minimiert werden. (Rossle 2013)

2.3.2. Verfahren

Als Seit-zu-Seit portocavaler Shunt (Colombato 2007) verbindet der TIPS innerhalb des Leberparenchyms einen Ast der Pfortader mit einer der drei Lebervenen, wobei meist die rechte Lebervene bevorzugt wird (Siramolpiwat 2014). In einer Notfallsituation ist die TIPS-Anlage in Intubation und Vollnarkose zum Aspirationsschutz des Patienten möglich (Boyer 2003). Das durchschnittlich 40- bis 90-minütige, nicht-chirurgische Verfahren (Grandt et al. 2004) erfolgt in den meisten Fällen in Analgosedierung und verzeichnet eine sehr niedrige Mortalität (Colombato 2007). Zu Beginn wird nach lokaler Betäubung die rechte *Vena jugularis interna* punktiert und eine Schleuse eingeführt. Über diese Schleuse können nun die

Arbeitsinstrumente über die *Vena cava superior* und *inferior* in die Lebervene eingeschoben werden. Anschließend erfolgt die HVPG-Messung. Nach der Gabe von Kontrastmittel und Identifikation eines zu punktierenden Pfortaderastes wird ein Führungsdraht eingesetzt. Über den Führungsdraht, welcher sich in der Lebervene befindet, wird die Ross-Nadel eingeführt und mit dieser ausgehend von der Lebervene der Pfortaderast punktiert. Nach erfolgreicher Punktion wird der Trakt zwischen den beiden Gefäßen innerhalb des Leberparenchyms mit einem Ballonkatheter erweitert, sodass der Stent eingesetzt und auf einen optimalen Durchmesser aufgedehnt werden kann (siehe Abbildung 2). Während des Eingriffs dienen Ultraschall und die digitale Subtraktionsangiographie zur Orientierung, Kontrolle und gezielten Punktion. (Boyer 2003)

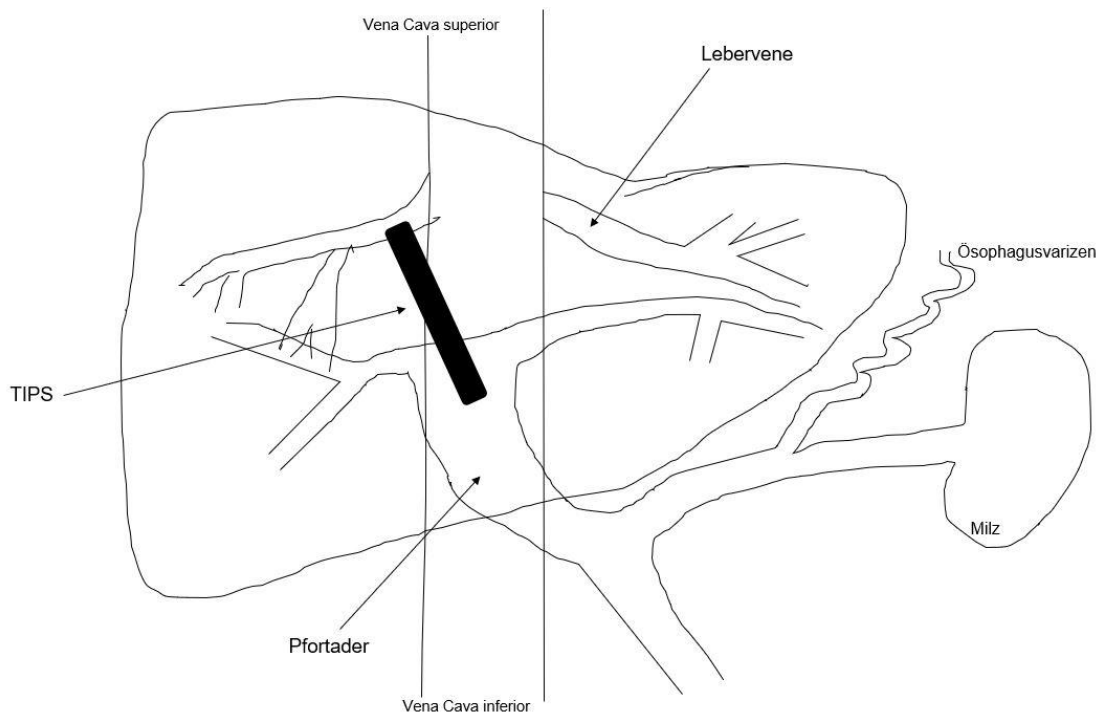


Abbildung 2: Schematische Darstellung der TIPS-Anlage nach (Rossle und Gerbes 2010). Der TIPS stellt eine künstliche Verbindung zwischen der Pfortader und der Lebervene zur Reduktion des portalen Drucks dar.

2.3.3. Indikationen und Kontraindikationen

Neben der korrekten Anlage des TIPS ist die sorgfältige Patientenselektion von besonderer Bedeutung. Kontraindikationen für eine TIPS-Anlage sind derzeit: eine HE ab Grad zwei, Serum-Bilirubin > 3 mg/dl, portale Venenthrombose, hochgradige Stenose der A. hepatica, höhergradige Herzinsuffizienz, mittlere bis schwere pulmonale Hypertension, multifokales HCC, Zystenleber, Infektionen sowie Sepsis

(Sauerbruch et al. 2013). Aus diesem Grund müssen vor dem Eingriff zur optimalen Patientenselektion verschiedene Untersuchungen stattfinden. Zum einen werden die Gefäße der Leber mit Hilfe der Duplex-Sonographie und gegebenenfalls CT auf Abnormalitäten untersucht. Zum anderen dient eine Echokardiografie vor dem Eingriff zum Ausschluss von kardialen Erkrankungen, insbesondere einer Herzinsuffizienz. Zusätzlich wird die Operationsfähigkeit und das Eingriffsrisiko des Patienten mithilfe des bereits genannten MELD-Scores sowie CPS bestimmt. Zur Erleichterung der Sonographie und der Punktion während des Eingriffes sollte bei Patienten mit einem Hydrothorax beziehungsweise mit therapierefraktärem Aszites, der weder durch Natriumrestriktion noch durch Gabe von Diuretika kontrollierbar ist (Membreno et al. 2005), eine Parazentese durchgeführt werden (Rossle 2013).

Die Hauptindikationen für einen TIPS sind zum einen die akute Varizenblutung, die endoskopisch nicht gestillt werden kann beziehungsweise innerhalb von fünf Tagen erneut auftritt. Weiterhin besteht die Möglichkeit der Anlage eines *early* TIPS. Dieser wird innerhalb von 24 - 72 Stunden nach Varizenblutung und erhöhtem Risiko für ein Therapieversagen nach pharmakologischer oder endoskopischer Intervention (Strunk und Marinova 2018) implantiert. Zum anderen ist der therapierefraktäre Aszites, bei dem der Aszites nicht punktiert werden kann beziehungsweise nach erfolgreicher Parazentese innerhalb eines kurzen Zeitraums erneut auftritt und weder durch Natriumrestriktion noch durch Gabe von Diuretika therapiert werden kann, eine bedeutende Indikation für die TIPS-Anlage (Adebayo et al. 2019).

2.3.4. Komplikationen und Prädiktoren

Obwohl die Anlage eines TIPS ein sicheres und schnelles Verfahren zur Senkung des portalen Drucks mit einer geringen 30-Tagesmortalität von unter 3 % ist (Strunk und Marinova 2018), können verschiedene Komplikationen auftreten. Zu diesen gehören unter anderem eine intraperitoneale Blutung, ein Riss der Leberkapsel, Verletzungen von Gefäßen oder Gallenwegen, Ausbildung von Fisteln sowie ein Verschluss oder eine Infektion des Stents. Eine bedeutende klinische Komplikation nach einer TIPS-Implantation ist die HE. Risikofaktoren hierfür sind eine Hypalbuminämie, erhöhtes Alter sowie eine bereits vor dem Eingriff existierende HE. (Strunk und Marinova 2018)

Ein wesentlicher Einfluss auf das Überleben der Patienten und den Therapieerfolg hat die Patientenselektion. Folgende Faktoren sind mit einer schlechteren Prognose nach TIPS-Anlage assoziiert: Bilirubin >3 mg/dl, Thrombozytenzahl $< 75\,000$ pro μl (Bureau et al. 2011), hohes Alter, vorbestehende HE (Rossle 2013) und kardiale Beeinträchtigung mit einem E/A-Verhältnis < 1 als Zeichen einer diastolischen Dysfunktion (Rabie et al. 2009).

Die Wahl des Stents ist ein weiteres wichtiges Kriterium für den Therapieerfolg der TIPS-Anlage. Die Verwendung von unbeschichteten Stents wies zunächst eine vermehrte Dysfunktions-Rate von über 50 % innerhalb des ersten Jahres nach Anlage auf. Durch die Entwicklung von Polytetrafluorethylen (PTFE)-beschichteten Stents konnte die Wahrscheinlichkeit von erneuten Dekompensationen sowie Interventionen (Bureau et al. 2004) und das Auftreten von Thrombosen innerhalb des TIPS (Strunk und Marinova 2018) signifikant reduziert werden, ohne dabei das Risiko für das Auftreten von einer HE zu erhöhen (Bureau et al. 2004).

Die Frequenz der Parazentesen bei Patienten mit refraktärem Aszites vor der TIPS-Anlage stellt sich ebenfalls als ein wichtiger prognostischer Faktor dar. Piecha et al. fanden heraus, dass eine niedrige Frequenz und ein niedriges Kreatinin vor der TIPS-Implantation mit einer besseren Asziteskontrolle nach der Implantation assoziiert sind. Patienten, die keine ausreichende Asziteskontrolle nach der TIPS-Anlage aufwiesen, zeigten ein vermindertes Transplantations-freies Überleben. (Piecha et al. 2019) So stellten auch Bureau et al. 2017 in einer kontrolliert-randomisierten Studie dar, dass eine TIPS-Anlage als Erstlinientherapie bei Patienten mit rezidivierendem Aszites einen Überlebensvorteil bietet, so dass nach aktueller Datenlage eher eine frühe TIPS-Anlage bei aszitischer Dekompensation empfohlen wird (Bureau et al. 2017).

2.4. Zelltodmarker M30 und M65

Wie bereits beschrieben, ist die Messung des HVPG der Goldstandard zur Berechnung des portalen Venendrucks (Karkmann et al. 2018). Dennoch ist zu beachten, dass die HVPG-Messung eine invasive Methode darstellt, welche nur in Krankenhäusern mit ausreichender Expertise durchgeführt werden kann (Lee 2017). Aus diesem Grund ist die Entwicklung von nicht-invasiven Methoden und

Biomarkern zur Vorhersage und Verlaufskontrolle einer PH ein wichtiger Aspekt derzeitiger Forschungen.

2.4.1. Apoptose und Nekrose

Die Leberzirrhose ist durch viele verschiedene Umbauvorgänge im Lebergewebe charakterisiert. Eine Schädigung der Hepatozyten kann zum Zelltod führen, welcher in zwei Hauptformen unterteilt wird: Apoptose und Nekrose (Burt et al. 2017). Bei der Apoptose, die häufig als gerichteter, beziehungsweise programmierter Zelltod beschrieben wird, werden apoptotische Körperchen aus Zellorganellen und Chromatinresten (Guicciardi und Gores 2005) gebildet. Diese werden von Phagozyten eliminiert, sodass das Immunsystem nicht aktiviert und keine Entzündungsreaktion ausgelöst wird (Canbay et al. 2014). Im Gegensatz dazu wird bei der Nekrose durch das Aufplatzen der Zellmembran das Zellinnere freigesetzt und eine Entzündungsreaktion ausgelöst (Guicciardi et al. 2013). Die Nekrose wird daher als unregulierter Zelltod bezeichnet. Durch einen akuten Stressor wie beispielsweise eine Ischämie kommt es in den Hepatozyten zu einer mitochondrialen Schädigung, wodurch die ATP-Produktion vermindert wird beziehungsweise wegfällt. Durch das fehlende ATP können ATP-abhängige Ionenpumpen nicht mehr aktiviert werden, was zu einem schnellen Anschwellen der Zellen und Zellorganellen mit einer Ruptur der Zellmembran führt (Luedde et al. 2014). Bei der Freisetzung der Zellinhalte wird ebenfalls das in der Zelle enthaltene Zytokeratin-18 (engl. cytokeratin-18, CK-18) freigesetzt, welches im venösen Blut als Zelltodmarker gemessen werden kann (Kramer et al. 2004).

In der gesunden Leber halten sich Zelltod und Zellerneuerung von Hepatozyten im Gleichgewicht (Luedde et al. 2014). Bei verschiedensten Lebererkrankungen kommt es zu einer vermehrten Freisetzung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) (Canbay et al. 2014). ROS werden im gesunden Organismus als Nebenprodukte des Energiestoffwechsels kontinuierlich produziert und dienen beispielsweise bei der Immunabwehr und Zelldifferenzierung als Signalmoleküle. Als Gegenspieler dienen antioxidative Signalwege zum Zellschutz und zur Aufrechterhaltung einer konstanten Konzentration von ROS (Chen et al. 2020). Unabhängig von der Ätiologie führen Lebererkrankungen zu einem Ungleichgewicht zwischen ROS und

antioxidativen Faktoren. Die Leber als wichtiges Organ des Stoffwechsels ist stetig ROS ausgesetzt. Beispielsweise führen bei der ALD die Alkoholabbauprodukte zu einer vermehrten Produktion von ROS und hemmen zusätzlich die antioxidativen Signalwege (Cichoz-Lach und Michalak 2014). Bei der NAFLD wird eine mitochondriale Dysfunktion als entscheidenden Faktor diskutiert (Masarone et al. 2018).

Die erhöhten Konzentrationen von ROS führen zu einer gesteigerten Synthese von Todesrezeptoren und deren Liganden, welche die Apoptose vermehrt induzieren (Canbay et al. 2014). Aufgrund der gesteigerten Apoptoserate kommt es zu einer Überaktivierung von nicht-parenchymatösen Zellen, wie Kupffer-Zellen, den Leberansässigen Makrophagen (Guicciardi und Gores 2010), hepatische Sternzellen, Perizyten im Disseiraum (Guicciardi und Gores 2010), sowie weiteren Immunzellen wie Lymphozyten, die zu einer zunehmenden Leberschädigung und Fibrosierung sowie Entstehung einer Leberzirrhose führen (Altinbas et al. 2015).

Ein Apoptosemarker ist das Caspase gespaltene CK-18 (Altinbas et al. 2015). CK-18 ist ein Intermediärfilamentprotein, das von parenchymalen Zellen in der Niere, in der Lunge, im Darm und in der Leber exprimiert wird (Macdonald et al. 2018). Intermediärfilamente sind Bestandteile des Zytoskeletts und tragen zur mechanischen Stabilität und Signaltransduktion der Zellen bei (Pegoraro et al. 2017). Um die Hepatozyten vor zellulärem Stress zu schützen, regulieren die CK verschiedenste Signalwege über Phosphorylierung. Deren Hyperphosphorylierung dient zusätzlich als Verlaufsmarker bei verschiedenen Lebererkrankungen (Strnad et al. 2012).

In der Leber schützt das CK-18 Hepatozyten und Cholangiozyten vor Apoptose, Nekrose sowie anderen Stressoren wie beispielsweise Toxine (Ku et al. 2016). Bei einer Leberschädigung wird CK-18 durch die Caspasen proteolytisch in CK-18-Fragmente gespalten, welche dann ins Blut freigesetzt werden (Canbay et al. 2014). Initiiert wird die Apoptose über die Bindung von extrazellulären Todesliganden (Tumornekrosefaktor-alpha (TNF α), Fas-Ligand) an Todesrezeptoren, die zu einer Aktivierung von Caspasen und den Abbau von verschiedenen Zellproteinen führt (Ku et al. 2016). Während der Apoptose spalten Caspasen das CK-18 am

Aspartatrest (Ku et al. 2016). Die entstandenen CK-18-Fragmente können mit Hilfe eines Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) über den M30-Antikörper im Serum oder Plasma erkannt werden und quantitativ im Labor gemessen werden (Canbay et al. 2014). Die Expression von TNF α und *Transforming growth factor* β (TGF β) in der Leber, welche eine bedeutende Rolle bei der Apoptose spielen, korrelieren mit der M30-Konzentration im Serum (Lavallard et al. 2011).

Geschädigtes CK-18 führt zu einer erhöhten Fragilität der Hepatozyten. Eine Mutation von CK-18 kann mit einer Prädisposition für verschiedene chronische Lebererkrankungen mit kryptogener Ursache assoziiert sein (Omary und Ku 1997). Histologisch lässt sich eine Dysregulation von CK-8 und CK-18 in den sogenannten Mallory-Denk-Körper nachweisen, welche ein typisches histologisches Merkmal für die alkoholische Steatohepatitis (ASH), den Morbus Wilson als auch die nichtalkoholische Steatohepatitis (NASH) darstellen (Strnad et al. 2012).

Gespaltene als auch nicht gespaltenes CK-18 werden von den Antikörpern M5 und M6 detektiert (Ku et al. 2016). Daher kann der M65 ELISA eine Aussage sowohl über die Aktivität der Apoptose als auch Nekrose, bei der ungespaltenes CK-18 ins Blut freigesetzt wird, geben und veranschaulicht somit Erkenntnisse über den Gesamtzelltod (Canbay et al. 2014). Dennoch muss berücksichtigt werden, dass CK-18 in verschiedenen Zelltypen exprimiert wird und daher die gemessene Menge an M30 und M65 nicht Leber-spezifisch ist (Macdonald et al. 2018). So können erhöhte Konzentrationen an nicht-gespaltenem CK-18 auch bei Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen im Serum erhöht sein (Roth et al. 2011).

2.4.2. ELISA (Grundprinzip)

Zur Quantifizierung der Apoptose und Nekrose kann mithilfe eines ELISA die Menge an gespaltenem und nicht-gespaltenem CK-18 anhand der M30- und M65-Antikörper im Plasma oder Serum eines Patienten gemessen werden. Im Folgenden wird das Prinzip des Sandwich-ELISA näher erläutert.

Die Mikrotiterplattenmulden, in denen die Patientenproben pipettiert werden, sind mit einem spezifischen (primären) Antikörper beschichtet, der gegen das zu bestimmende Antigen gerichtet ist. Nach der Inkubation von Antigen und Antikörper,

werden nicht gebundene Antigene durch einen Waschschrift entfernt. Es wird ein zweiter (sekundärer) Antikörper hinzugegeben. Dieser sekundäre Antikörper, welcher mit einem Indikatorenzym behaftet ist, ist gegen das Antigen gerichtet und bindet an dieses. Durch einen weiteren Waschschrift werden ungebundene Antikörper entfernt. Anschließend erfolgt die Inkubation mit dem Enzym-Substrat. Abschließend wird die Stop-Lösung in die Mulden pipettiert, um die Reaktion zu beenden. Das Substrat wird durch das Indikatorenzym gespalten, was zu einer Farbänderung führt, welche photometrisch gemessen werden kann. Die gemessene gebundene Enzymmenge ist proportional zu der in den Proben vorhandenen Antigenmenge (Rassow et al. 2016).

2.4.3. Assoziation von M30 und M65 mit verschiedenen Lebererkrankungen

Sowohl M30 als auch M65 können bei Krebserkrankungen als auch bei vielen anderen Lebererkrankungen wie einer Infektion mit HBV oder HCV erhöht sein (Mueller et al. 2017). Daher kann die Messung der Zelltodmarker im Blut als zusätzlicher diagnostischer Schritt vor einer invasiven Leberbiopsie dienen. So untersuchten Bantel et al. gespaltenes CK-18 bei Patienten mit chronischer HCV-Infektion. Insbesondere bei fortgeschrittenen Stadien wiesen die Studienpatienten bei laborchemisch normwertigen Transaminasen erhöhte Konzentrationen von CK-18-Fragmenten auf, welche mit einem höheren Fibroestadium assoziiert waren (Bantel et al. 2004). Bei Patienten mit einer Leberzirrhose konnten Oweira et al. zeigen, dass die Serumwerte von M30 und M65 signifikant höher waren als bei gesunden Patienten. M65 korrelierte mit dem MELD-Score und dem Serumbilirubin. Für M30 konnte zusätzlich eine Korrelation mit dem INR nachgewiesen werden (Oweira et al. 2018).

Es existieren bereits zahlreiche Publikationen, die die Korrelation von M30 und M65 mit dem Schweregrad der NAFLD beschreiben (Canbay et al. 2014). Die NAFLD imponiert durch eine ansteigende Prävalenz von aktuell 25% weltweit, begründet durch die ansteigende Inzidenz des metabolischen Syndroms, und wird anhand einer Leberverfettung von mindestens 5 % der Hepatozyten definiert (Maurice und Manousou 2018). Zusätzlich darf keine weitere Ätiologie des Leberschadens, wie Alkoholkonsum oder Virushepatitiden, vorliegen (Younossi et al. 2016). Zur NAFLD

gehören die reine Fettleber (NAFL), die NASH sowie in schweren Formen die Leberfibrose und Leberzirrhose (Maurice und Manousou 2018). Die NAFL zeichnet sich histologisch durch eine makrovesikuläre Verfettung von über 5 % ohne eine Schädigung oder Entzündung der Hepatozyten aus. Die NASH ist durch eine Verfettung des Leberparenchyms von mehr als 5 % zusammen mit histologischen Zeichen einer Leberzellschädigung wie Entzündung oder Ballonierung charakterisiert (Chen et al. 2020). Für die Unterscheidung zwischen NAFL und NASH sowie zur definitiven Diagnose der NAFLD dient als Goldstandard die Leberbiopsie (Chen et al. 2020). Aufgrund der Invasivität, Kosten und Fehlerrate der Leberbiopsie ist die Evaluation von nicht-invasiven Markern von entscheidender Bedeutung. Die Messung von M30 und M65 im Serum kann signifikant zwischen Patienten mit NAFL, NASH und gesunden Personen unterscheiden (Joka et al. 2012), wobei Patienten mit einer NASH deutlich höhere Werte von M30 und M65 im Vergleich zu gesunden Personen oder Patienten mit NAFL aufweisen (Wieckowska et al. 2006). Dies ist von Bedeutung, da Patienten mit einer NASH eine Leberfibrose rascher entwickeln als Patienten mit einer NAFL (Maurice und Manousou 2018), wobei die Leberfibrose als ausschlaggebender Prädiktionsmarker für den Verlauf der NAFLD angesehen wird (Dulai et al. 2017). Zusätzlich korreliert M30 mit dem NAFLD activity Score (NAS), der anhand histologischer Charakteristika mithilfe einer Biopsie berechnet wird (Lavallard et al. 2011). Die Entwicklung einer Alternative zur Biopsie-basierten Diagnostik ist vor allem hinsichtlich der Zunahme der Adipositas und NAFLD bei Kindern und Jugendlichen von besonderer Bedeutung. Bei der pädiatrischen NAFLD ist M30 ein zuverlässiger Biomarker zur Erkennung einer NASH (Feldstein et al. 2013).

Analog zur NAFLD dient ebenfalls die ALD als Oberbegriff für alkohol-bedingte Lebererkrankungen (Torruellas et al. 2014). Eine schwere Form der ALD, die ASH, wird anhand histologischer Charakteristika definiert. Die Diagnose erfolgt über den Nachweis von Mallory-Denk-Körper sowie einer Ballonierung der Hepatozyten und zentrilobulären Steatose (Torruellas et al. 2014).

Mueller et al. konnte zeigen, dass M30 als Apoptosemarker neben der NAFLD auch bei der ALD eine wichtige Rolle spielt und dass sowohl M30 als auch M65 in Patienten mit alkoholisch bedingter Leberzirrhose bedeutende Prognosemarker

sind. Die Patienten, die zu Beginn der Studie ein hohes M30- (> 255 U/l) und M65- (> 650 U/l) Serumspiegel aufwiesen, zeigten eine deutliche Risikoerhöhung an einem HCC-unabhängigen Tod zu versterben. Zusätzlich sind sowohl M30 als auch M65 mit histologischen Zeichen der ASH und Apoptose assoziiert. Dennoch konnte durch die Serumspiegel von M30 und M65 keine Unterscheidung zwischen ALD und NAFLD gezeigt werden (Mueller et al. 2017).

Als Form des akut-auf-chronischen Leberversagens (engl. acute-on-chronic liver failure, ACLF) wird die alkoholische Hepatitis (AH) klinisch definiert (Casanova und Bataller 2014). Woolbright et al. fanden heraus, dass die Zelltodmarker M30 und M65 dazu geeignet sind, zwischen Patienten mit einer AH und einer Alkoholbedingten Leberzirrhose zu unterscheiden, da die Konzentrationen bei einer akuten Entzündung im Rahmen der AH deutlich höher sind. Zusätzlich kann durch M65 und dem Verhältnis aus M30 und M65 (M30/M65-Ratio) die Sterblichkeit von Patienten mit einer AH im Frühstadium vorhergesagt werden (Woolbright et al. 2017). Bissonette et al. zeigten, dass M30 als nicht-invasiver Prognosemarker sowie als diagnostischer Marker für Patienten mit AH dienen kann (Bissonette et al. 2017).

In einer prospektiven Studie analysierten Bechmann et al. 2010 die serologischen Spiegel von M30 und M65 als prädiktive Marker bei Patienten mit einem akuten Leberversagen (ALF). Hierbei zeigte sich, dass die Sensitivität von M65 der vom MELD-Score gleicht und im Gegensatz dazu, dass Bilirubin keinen prognostischen Wert hat. Aus diesem Grund entwickelten die Autoren durch das Austauschen von Bilirubin mit M65 den M65-basierten MELD-Score, der sowohl durch eine hohe Sensitivität als auch Spezifität insbesondere die Notwendigkeit einer Lebertransplantation bei Patienten mit ALF vorhersagen kann (Bechmann et al. 2010).

Macdonald et al. untersuchten M30 und M65 bei Patienten mit einer akuten Dekompensation der Leberzirrhose und Patienten mit einem ACLF. Beim ACLF kommt es bei Patienten mit einer vorbestehenden Lebererkrankung durch akute Trigger zu einer Verschlechterung der Leberfunktion und hepatischen oder multiplem Organversagen (Hubener et al. 2018). Hierbei zeigte sich, dass die Höhe der Zelltodmarker im Serum mit der Schwere der Erkrankung ansteigt. Zudem

weisen Patienten mit einem ACLF ein erniedrigtes M30/M65-Ratio mit deutlich erhöhten Werten von M65 im Verhältnis zu der Menge an M30 auf. Bei einer akuten Dekompensation sind die Werte von M30 im Vergleich zur M65-Konzentration höher, was auf eine vermehrte Apoptose deutet. Weiterhin waren erhöhte Werte von M30 und M65 mit Alkoholabusus, einer ALD und dem Fehlen einer Dekompensation in der Vorgeschichte des Patienten assoziiert (Macdonald et al. 2018). Letzteres begründen die Autoren damit, dass vorherige Dekompensationen zu einer Organtoleranz sowie zu seneszenten Hepatozyten führen, welche sich resistent gegenüber der Apoptose verhalten. M30 und M65 korrelieren mit Laborparametern wie Bilirubin und GPT. Hieraus folgern Macdonald et al., dass die Erhöhung der Zelltodmarker überwiegend hepatischem Ursprung ist (Macdonald et al. 2018).

Zusammenfassend existiert publizierte Evidenz, dass die serologischen Spiegel der Zelltodmarker M30 und M65 mit einem höheren histologischen Schweregrad, einem schlechteren klinischen Verlauf und mit einer schlechteren Prognose bei Lebererkrankungen assoziiert sind.

Dennoch existieren derzeit keine Daten, ob M30 und M65 als Marker der Leberschädigung mit portal-hypertensiver Dekompensation, beziehungsweise mit der PH selbst, korrelieren und ob durch die Senkung der PH im Rahmen einer TIPS-Implantation die Spiegel der Zelltodmarker abfallen.

3. Material und Methoden

3.1. Material

3.1.1. Probenverarbeitung und Probensammlung

Tabelle 1: Verbrauchsmaterialien für Sammlung und Verarbeitung der Patientenproben (Studienblut)

Bezeichnung	Hersteller
S-Monovette® Kalium-EDTA 7,5 ml	Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland
Präzisionspipetten Eppendorf research (1000 µl)	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Pipettenspitzen (1250 µl extra long)	Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland
CryoPure Gefäß 1,6 ml rot	Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland
Eppendorf Zentrifuge 5810 R	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Thermo Scientific™ MSC-Advantage™ biologische Sicherheitswerkbänke der Klasse II	Fisher Scientific GmbH, Schwerte, Deutschland
Antifect N Liquid	Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland

3.1.2. ELISA

Tabelle 2: Materialien für den M30 und M65 ELISA

Bezeichnung	Hersteller
M30 Apoptosense® ELISA (Produktnummer: 10011)	VLVbio, Nacka, Schweden
M65® ELISA (Produktnummer: 10020)	VLVbio, Nacka, Schweden
Infinite F50 Absorptionsmessgerät für Mikrotiterplatten (Wellenlänge 450 nm)	TECAN Group Ltd., Männedorf, Schweiz
Kombischüttler KL2 (600 U/min)	Edmund Bühler GmbH, Bodelshausen, Deutschland
Mehrkanalpipette Eppendorf research plus	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Präzisionspipetten Eppendorf research: 25, 50, 75, 200 µl	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Multipipette E3/E3x	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Combitips	Eppendorf, Hamburg, Deutschland

Duran pressure plus Laborflasche 500 ml	DWK Life Sciences GmbH, Mainz, Deutschland
Aqua 1 l	B. Braun Melsungen AG Melsungen, Deutschland

3.1.3. Software

Tabelle 3: Verwendete Software

Bezeichnung	Hersteller
Microsoft Office Professional Plus 2016	Microsoft Corporation, Redmond, Vereinigte Staaten von Amerika
GraphPad Prism 6.01	GraphPad Software Inc., San Diego, Vereinigte Staaten von Amerika
SPSS Statistics 26	IBM, North Castle, Vereinigte Staaten von Amerika
EndNote X9.3.3	Clarivate Analytics, Philadelphia, Vereinigte Staaten von Amerika

3.2. Methoden

3.2.1. Studiendesign und Patientenkollektiv

Von September 2018 bis Januar 2020 wurden in dieser prospektiv-translationalen Kohortenstudie Blut von Patienten mit einer PH, die einen TIPS am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE) erhielten, gesammelt. Der Ethikantrag wurde vor dem Beginn der Studie im September 2018 von der Ärztekammer Hamburg genehmigt (Referenznummer PV5727). Vor dem Einschluss der Patienten in die Studie haben alle Teilnehmer mindestens 24 Stunden vor der TIPS-Anlage eine Aufklärung und Einwilligungserklärung unterschrieben. Die Verarbeitung, Dokumentation und Archivierung erfolgten pseudonymisiert.

Neben den Patienten, die aufgrund einer aszitischen, portal-hypertensiven Dekompensation einen TIPS erhalten haben (TIPS-Kohorte), wurden Patienten, die eine kompensierte Leberzirrhose aufweisen, zusätzlich als Kontrollkohorte rekrutiert.

3.2.1.1. Einschluss- und Ausschlusskriterien

Eingeschlossen für die TIPS-Kohorte wurden alle Patienten mit refraktärem Aszites im Rahmen einer PH und einer zugrunde liegenden Leberzirrhose, die einen TIPS am UKE erhalten haben. Hierbei wurden vor allem über die zentrale Aufnahmekoordination geplante TIPS-Anlagen als auch stationäre Patienten berücksichtigt. Patienten, die einen Notfall-TIPS erhielten, konnten aufgrund der Dringlichkeit nicht eingeschlossen werden.

Für die Kontrollkohorte wurden Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose ab 18 Jahren eingeschlossen.

Zu den Ausschlusskriterien gehörten eine aktive Infektion mit HCV oder HBV und einer erhöhten Viruslast oder einer fehlenden antiviralen Therapie, TIPS-Anlage in der Vorgeschichte, eine PH ohne zugrunde liegende Leberzirrhose, Alter unter 18 Jahren sowie Patienten, die nicht einwilligungsfähig waren (zum Beispiel aufgrund einer Intubation oder einem verminderten Sprachverständnis).

3.2.1.2. Patientenrekrutierung und Datenakquise

Nach der Aufklärung und Einwilligung der Studienpatienten wurde vor der TIPS-Anlage peripheres venöses Blut abgenommen (Prä TIPS). Zu allen Messzeitpunkten wurden neben der regulären peripheren Blutentnahme, bei der die klinischen Parameter gemessen wurden, jeweils drei 7,5 ml EDTA-Röhrchen zusätzlich abgenommen. Des Weiteren erfolgte bei jedem Patienten vor dem Eingriff eine Sonografie der Leber, eine Herzechografie, ein Zahlenverbindungstest zur HE-Diagnostik sowie bei punktionswürdigem Aszites eine Aszitespunktion. Die Aszitespunktion diente vor allem zum Ausschluss einer SBP sowie zur Verbesserung der Ultraschallbedingungen während des Eingriffes. Zur Sammlung der klinischen Daten diente zum einen ein Fragebogen, welcher mit jedem Patienten vor dem Eingriff durchgeführt wurde. Dieser beinhaltet Patientendaten wie Größe, Gewicht, Alter und Geschlecht, sowie Daten zur Krankheitsgeschichte, wie Ätiologie, Menge des Alkoholkonsums, Zustand nach Komplikationen und Begleiterkrankungen. Zum anderen wurden wichtige Daten aus der

Patientenhistorie in der elektronischen Patientenakte (Programm Soarian Siemens AG) entnommen.

Während des Eingriffes wurden ebenfalls drei 7,5 ml EDTA-Röhrchen aus der Lebervene als auch aus der Pfortader entnommen, um M30 und M65 nicht nur peripher, sondern auch lokal zu bestimmen. Nach der Sondierung der Lebervene über einen Katheter wurde vor, beziehungsweise nach der Wedgedruckmessung direkt Blut aus der Lebervene steril entnommen. Nach der Punktion der Pfortader und vor der Erstellung und Weitung des TIPS-Traktes wurde das Blut aus der Pfortader entnommen.

Zwei bis fünf Tage nach dem Eingriff erfolgte eine erneute peripher-venöse Blutentnahme (short Follow-up (FU)) und ein Ultraschall vor der Entlassung des Patienten sowie die Terminierung zur Wiedervorstellung in der hepatologischen Ambulanz des UKE. Innerhalb von 90 Tagen nach der TIPS-Anlage wurde erneut peripher-venöses Blut entnommen und als „early FU“ asserviert. Alle dem early FU nachfolgenden Wiedervorstellungen und Blutentnahmen wurden als „late FU“ definiert. Keine Blutentnahme erfolgte bei eingeschlossenen Studienpatienten mit schwerer systemischer Infektion.

Zur Quantifizierung des Verlaufs und des TIPS-Ansprechens wurden bei der ambulanten Wiedervorstellung zum FU folgende Punkte eruiert: Stattgehabte Parazentese, HE, Alkoholkonsum, Blutung, SPB, Infektion, periphere Ödeme, Gewichtsverlauf, Krankenhausaufenthalt und Exitus letalis.

Zusätzlich zur ambulanten Einbestellung der Patienten wurde bei allen Studienteilnehmern, die während des Beobachtungszeitraumes am UKE stationär aufgenommen wurden, klinische Daten gesammelt und Blut abgenommen. Das FU endete mit dem Exitus letalis, einer Lebertransplantation oder dem Nicht-Erscheinen zum FU sowie mit dem Ende des Beobachtungszeitraums im Januar 2020 (siehe Abbildung 3).

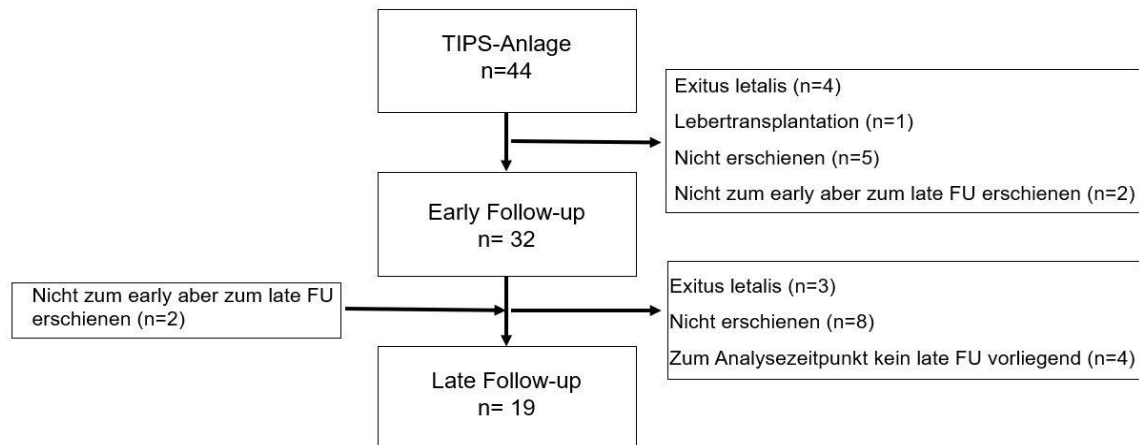


Abbildung 3: Flowchart zur Darstellung des Follow-up

Die Patienten für die Kontrollkohorte wurden in der hepatologischen Ambulanz am UKE rekrutiert. Nach Aufklärung und Einwilligung der Patienten wurde das Studienblut zusätzlich zur Routine-Blutentnahme abgenommen. Dies erfolgte einmalig ohne weiteren zeitlichen Verlauf. Die klinischen Daten wurden über das Programm Soarian gesammelt.

Im Hinblick auf die klinischen Daten und die Erfolgsrate der TIPS-Anlage erfolgte zusätzlich die Einteilung der TIPS-Patienten in Responder und Non-Responder. Die Non-Responder wurden anhand von zwei Kriterien charakterisiert: a) frühes Versterben und/oder b) anhaltende Notwendigkeit von Aszitespunktionen über drei Monate nach der TIPS-Anlage. Frühes Versterben wurde anhand einer Zeitspanne von unter 3 Monaten nach TIPS-Anlage und zusätzlich relevanten Mengen von Aszites zum Todeszeitpunkt definiert.

3.2.2. Labortechnische Analyse

Die gesammelten Blutproben der Patienten wurden einheitlich verarbeitet und nach Abschluss der Rekrutierung die M30- und M65-Konzentration im Plasma gemessen.

3.2.2.1. Probenverarbeitung

Nach der Abnahme des Studienblutes wurde das Blut bis zum Transport in das Labor im Kühlschrank bei vier Grad gelagert. Die Blutproben wurden am Tag der Blutentnahme im S1 Labor bei Raumtemperatur und unter allen Sicherheitsvorkehrungen verarbeitet. Die Arbeit erfolgte zudem unter einer biologischen Sicherheitswerkbank Klasse II. Zunächst wurden die EDTA-Röhrchen bei 400 g für 5 Minuten bei Raumtemperatur zentrifugiert. Anschließend wurden 0,5 ml bis 1 ml Plasma in maximal 3 Aliquots pipettiert und bei -80 °C bis zur Messung gelagert.

3.2.2.2. ELISA

Der Apoptosemarker M30 wurde mithilfe des M30-Apoptosense® (PEVIVA®) ELISA der Firma VLVbio analysiert. Dieser ELISA bestimmt quantitativ die durch Caspase-gespaltenen löslichen humanen CK-18-Intermediärfilamente (ccK18, K18Asp396 oder M30-Neoepitop).

Das gesamte lösliche CK-18, das sowohl bei apoptotischem als auch bei nekrotischem Zelltod freigesetzt wird, wurde mithilfe des M65 ELISA (Peviva) VLVbio quantitativ gemessen. Hierbei erkennen die monoklonalen Antikörper M5 und M6 sowohl die Epitope des Caspase-gespaltenen als auch die des ungespaltenen CK-18.

Die Durchführung beider ELISA erfolgte nach Herstellerangaben.

3.2.3. Statistische Auswertung

Die Datensammlung erfolgte mit Microsoft Excel. Die statistischen Analysen wurden mit den Programmen GraphPad und SPSS durchgeführt.

Für kategoriale Daten wurden Zählungen und Prozentsätze berechnet. Für kontinuierliche Daten sind Mittel- und Medianwerte mit der entsprechenden Standardabweichung (SD) oder dem Interquartilsabstand (engl. interquartile range, IQR) angegeben. Ausreißer wurden anhand der ROUT Methode (mit Q=1 %) identifiziert und eliminiert. Bei allen statistischen Analysen wurde das Ergebnis als signifikant bewertet, wenn galt:

P-Wert < 0,05: * ($p < 0,01$: **, $p < 0,001$: ***, $p < 0,0001$: ****).

Die Daten wurden nach dem D'Agostino und Pearson Test auf Normalverteilung untersucht. Daraufhin wurde abhängig von der Normalverteilung und Anzahl der zu vergleichenden Gruppen ein t-test, Mann-Whitney-U-Test, Kruskal-Wallis- oder Friedman-Test angewendet.

Aufgrund der Nicht-Normalverteilung bei den auf Korrelation untersuchten Messergebnissen von M30 und M65 erfolgten die Korrelationsanalysen mit der Spearman-Rho-Korrelation. Der Korrelationskoeffizient ρ wurde nach Tabelle 4 interpretiert. (Mukaka 2012).

Tabelle 4: Interpretation des Korrelationskoeffizienten nach Mukaka et al.

Korrelationskoeffizient	Interpretation
0,9 bis 1,0 (-0,9 bis -1,0)	Sehr starke positive (negative) Korrelation
0,7 bis 0,9 (-0,7 bis -0,9)	Starke positive (negative) Korrelation
0,5 bis 0,7 (-0,5 bis -0,7)	Moderate positive (negative) Korrelation
0,3 bis 0,5 (-0,3 bis -0,5)	Geringe positive (negative) Korrelation
0,0 bis 0,3 (0,0 bis -0,3)	Korrelation, die zu vernachlässigen ist

Zur Erstellung eines Prädiktionsmodells für M30 und M65 hinsichtlich des TIPS-Ansprechens erfolgte die Analyse über eine logistische Regression mit dem Programm SPSS. Die Berechnungen erfolgten über ein logistisches Regressionsmodell, da die zu erklärende Variable (TIPS-Ansprechen) binär ist: Responder beziehungsweise Non-Responder.

4. Ergebnisse

4.1. Patientencharakteristika

Damit die späteren Ergebnisse der M30- und M65-Konzentrationen valide eingeordnet werden können, ist die Berücksichtigung der Patientencharakteristika bei Studieneintritt von großer Bedeutung. Bisherige Studien haben vor allem M30 und M65 anhand einer spezifischen Ätiologie, wie ALD oder NAFLD untersucht. Die Patientencharakteristika sollen einen Überblick über den klinischen und laborchemischen Ausgangsstatus innerhalb der beiden Kohorten geben. Diese sind in Tabelle 5 abgebildet.

Tabelle 5: Patientencharakteristika unterteilt in TIPS-Kohorte und Kontrollkohorte

Variablen	Kontrollkohorte, n=24	TIPS-Kohorte, n=44
Geschlecht		
Männlich (n, %)	18 (75)	24 (54,5)
Weiblich (n, %)	6 (25)	20 (45,5)
Alter Mittelwert $\pm$ SD [Jahre]	59 $\pm$ 11	60 $\pm$ 8
Ursache der Leberzirrhose (n, %)		
ALD	16 (66,7)	31 (70,5)
NASH	2 (8,3)	5 (11,4)
AIH	0	2 (4,5)
ALD und viral	0	2 (4,5)
kryptogen	2 (8,3)	4 (9,1)
Hämochromatose	2 (8,3)	0
andere	2 (8,3)	0
Median CLIF-C AD Score (IQR)	46 (8)	49,5 (6)
Median MELD-Score (IQR)	8 (6)	13 (4)
Median MELDNa (IQR)	9 (9)	15 (8)
Median Child-Pugh-Score (IQR)	5 (1)	9 (1)
CPS A (n, %)	18 (75)	0
CPS B (n, %)	4 (16,7)	34 (77,3)
CPS C (n, %)	0	10 (22,7)
Laborwerte (Median, IQR)		
HbA1c [%]	/	4,7 (0,8)

Bilirubin [mg/dl]	0,9 (0,6)	1,5 (1,3)
GOT [U/l]	37 (23)	36 (20)
GPT [U/l]	32 (45)	21 (12)
γGT [U/l]	98 (129)	88 (67)
Alkalische Phosphatase [U/l]	113 (56)	118 (75)
Albumin [g/l]	37,7 (6,9)	25,9 (6,3)
Thrombozyten [$10^3/\mu\text{l}$]	127 (99)	102 (62)
INR	1,1 (0,3)	1,3 (0,2)
Fibrinogen [$\mu\text{mol/l}$]	/	3,45 (1,49)
Kalium [mmol/l]	/	4,1 (0,8)
Natrium [mmol/l]	138 (5)	137 (7)
Kreatinin [mg/dl]	0,9 (0,2)	1,15 (0,78)
CRP [mg/l]	/	16 (22)
Leukozyten [$\times 10^9/\text{l}$]	5,2 (1,9)	5,5 (4,0)
Angabe der Daten in n (%), Mittelwert $\pm$ SD oder Median (IQR) AIH, Autoimmunhepatitis; ALD, Alkoholische Lebererkrankung; CLIF-C AD Score, CLIF Consortium Acute Decompensation Score; CRP, C-reaktives Protein; GOT, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase; GPT, Glutamat-Pyruvat-Transaminasen; INR, International Normalized Ratio; MELD, Model for end-stage liver disease; NASH, Nicht-alkoholische Steatohepatitis; γGT, Gamma-GT		

Vierundvierzig Patienten mit dekompenzierter Leberzirrhose und geplanter TIPS-Anlage sind in dieser prospektiven Kohortenstudie eingeschlossen worden, wobei 24 Patienten (54,5 %) männlich und 20 Patienten (45,5 %) weiblich sind. Das Durchschnittsalter beträgt 60 Jahre. 18 männliche (75 %) und 6 weibliche (25 %) Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose sind als Kontrollkohorte rekrutiert worden. Von den insgesamt 24 kompensierten Patienten liegt das mittlere Alter bei 59 Jahren.

Hauptursache der Leberzirrhose ist mit circa 70 % sowohl bei der TIPS-Kohorte als auch bei der Kontrollkohorte die ALD. Danach folgt in beiden Gruppen die NASH mit jeweils circa 10 %. Somit sind beide Kohorten hinsichtlich der Ätiologie zu einem großen Prozentsatz vergleichbar.

Da es sich bei der Kontrollkohorte um Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose handelt, unterscheiden sich die Kohorten insbesondere in Merkmalen, die sich auf das Stadium der Leberzirrhose beziehen. Anhand der klinischen Scores zeigt sich, dass die Patienten der TIPS-Kohorte im Gegensatz zu den Patienten in der Kontrollkohorte ein fortgeschrittenes Stadium der

Leberzirrhose aufweisen. Der Median (IQR) vom MELD-Score beträgt in der TIPS-Kohorte 13 (4) und in der Kontrollkohorte 8 (6). Des Weiteren sind 75 % der Kontrollkohorte als CPS A klassifiziert worden, wohingegen in der TIPS-Kohorte bei 77,3 % der Patienten ein CPS B vorliegt. Der Median (IQR) CLIF-C AD Score beträgt in der TIPS-Kohorte 49,5 (6) und in der Kontrollkohorte 46 (8).

Hinsichtlich der Laborparameter bestehen keine eindeutigen Unterschiede zwischen beiden Patientenkohorten. Die Werte von GPT, Albumin und die Thrombozytenzahl liegen in einem höheren Bereich bei der Kontrollkohorte, wobei in der TIPS-Kohorte die Werte von Bilirubin und Kreatinin höhere Werte annehmen.

Zusätzlich zu den klinischen und laborchemischen Parametern sind für die TIPS-Kohorte Daten erhoben worden, welche mit der Dekompensation und dem TIPS-Eingriff in Verbindung stehen. Diese sind in Tabelle 6 aufgeführt.

Tabelle 6: Daten zur TIPS-Anlage. Anamnestische Daten der Patienten vor TIPS-Anlage sowie der Parameter während des Eingriffes.

	TIPS-Kohorte, n=44
Bisherige Ereignisse (n, %)	
SBP	16 (36,4)
HRS	16 (36,4)
Hydrothorax	5 (11,4)
HE	10 (22,7)
Varizenblutung	16 (36,4)
Varizengröße (n, %)	
Keine Varizen	11 (25)
I	23 (52,3)
I – II	3 (6,8)
II	5 (11,4)
III	2 (4,5)
IV	0 (0)
Aszites (n, %)	44 (100)
Median Anzahl Parazentesen vor der TIPS-Anlage/Monat (IQR)	2,0 (2,0)
Median HVPG prä TIPS [mmHg] (IQR)	25 (10)
Median HVPG post TIPS [mmHg] (IQR)	9 (6)

Median HVPD-Differenz [mmHg] (IQR)	15 (8)
Stentlänge [mm] (n, %)	
40+20	1 (2,3)
50+20	1 (2,3)
60+20	9 (20,5)
70+20	25 (56,8)
80+20	6 (13,6)
Nicht bekannt	2 (4,5)
Maximale Stentgröße [mm] (n, %)	
10	42 (95,5)
Nicht bekannt	2 (4,5)
Dilatationsgröße des Stents [mm] (n, %)	
8	42 (95,5)
Nicht bekannt	2 (4,5)
Angabe der Daten in Median (IQR) oder n (%).	
HE, Hepatische Enzephalopathie; HRS, Hepatorenales Syndrom; HVPD, Hepatisch-venöser Druckgradient	
SBP, Spontan bakterielle Peritonitis	

Alle 44 Patienten innerhalb der TIPS-Kohorte wiesen vor dem Eingriff Aszites auf, welcher im Median mit einer Frequenz von 2 Mal pro Monat punktiert wurde. Die mit der PH assoziierten Komplikationen traten in folgender Häufigkeit vor der TIPS-Anlage auf: Bei 16 Patienten (36,4 %) jeweils eine SBP, ein HRS oder eine Varizenblutung, bei 10 Patienten (22,7 %) eine HE und bei 5 Patienten (11,4 %) ein hepatischer Hydrothorax.

Wie in der Einleitung bereits beschrieben, konnte durch die Entwicklung von PTFE-beschichteten Stents die Komplikationsrate signifikant gesenkt werden. Fünfundzwanzig (56,8 %) der 44 Patienten, die einen TIPS erhielten, bekamen einen 70+20 mm TIPS implantiert. Dies bedeutet, dass 70 mm des Stents mit PTFE beschichtet (intrahepatischer Anteil) und 20 mm ohne Beschichtung (portaler Anteil) sind (Radeleff 2021). Bei allen Patienten lag der maximale Durchmesser des Stents bei 10 mm und wurde bei allen Patienten auf 8 mm dilatiert. Der Median des HVPD betrug vor dem Eingriff 25 mmHg (10), was eine Indikation zur TIPS-Anlage darstellt. Nach der TIPS-Implantation sinkt der HVPD auf einen Median von 9 mmHg (6). Hieraus ergibt sich eine Differenz des HVPD vor und nach der TIPS-Anlage von 15 mmHg (8).

4.2. Vergleich Zelltodmarker bei Patienten mit kompensierter und dekomensierter Leberzirrhose

Macdonald et al. konnten zeigen, dass die Zelltodrate bei Patienten mit dekomensierter Leberzirrhose insbesondere auch im Vergleich zu Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose signifikant höher ist. Dennoch fehlen derzeit Untersuchungen, inwiefern sich die PH auf den epithelialen Zelltod im Rahmen von Apoptose und Nekrose auswirkt. In dieser Arbeit soll der Zusammenhang zwischen PH, hepatischem Zelltod und der Leberfibrose als Circulus vitiosus untersucht werden. Zunächst wird die Hypothese, dass die PH den hepatischen Zelltod bedingt, näher betrachtet. Aus diesem Grund wurde die Konzentration von M30 als Apoptosemarker im Plasma von Patienten mit einer dekomensierten Leberzirrhose im Rahmen einer CSPH und geplanter TIPS-Anlage sowie in stabilen Patienten mit kompensierter Leberzirrhose (Kontrollkohorte) gemessen.

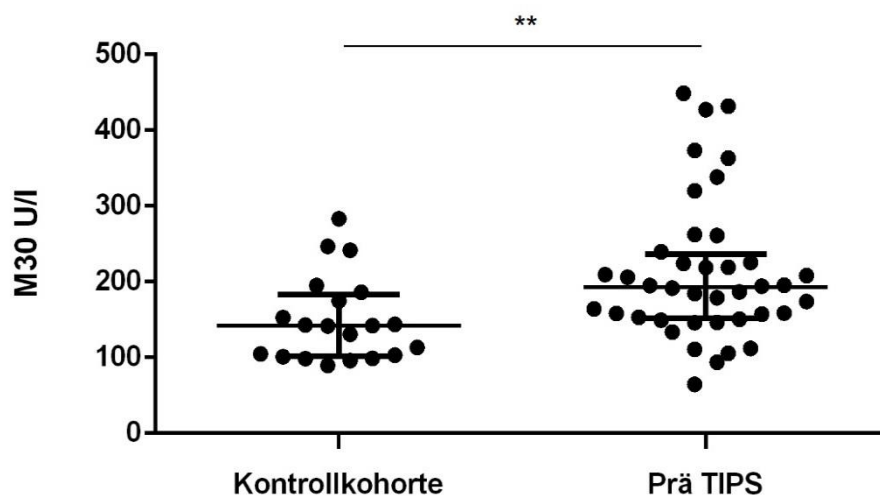


Abbildung 4: Plasmalevel von M30 bei Patienten mit kompensierter und dekomensierter Leberzirrhose.

Die Plasmakonzentration des Apoptosemarkers M30 im peripheren Plasma von Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose (Kontrollkohorte, n=24) und dekomensierten Leberzirrhose vor TIPS-Anlage (Prä TIPS, n=44). Die Analyse erfolgte mit einem Mann-Whitney-U-Test. Darstellung der Daten in Median mit IQR.

In Abbildung 4 zeigt sich, dass Patienten mit einer dekomensierten Leberzirrhose mit einem Median (IQR) von 192,9 (84,8) U/l eine signifikant höhere Konzentration an M30 im peripheren Plasma als Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose (Median 141,8 (81,8) U/l) aufweisen ($p = 0,0021$).

Nachdem bei der Messung von M30 ein signifikanter Unterschied zwischen den untersuchten Patientenkohorten zu erkennen ist, wird im Folgenden der Gesamtzelltod anhand der M65-Plasmakonzentration näher betrachtet. Wie bei der Messung von M30 wurde die TIPS-Kohorte mit der Kontrollkohorte verglichen (siehe Abbildung 5).

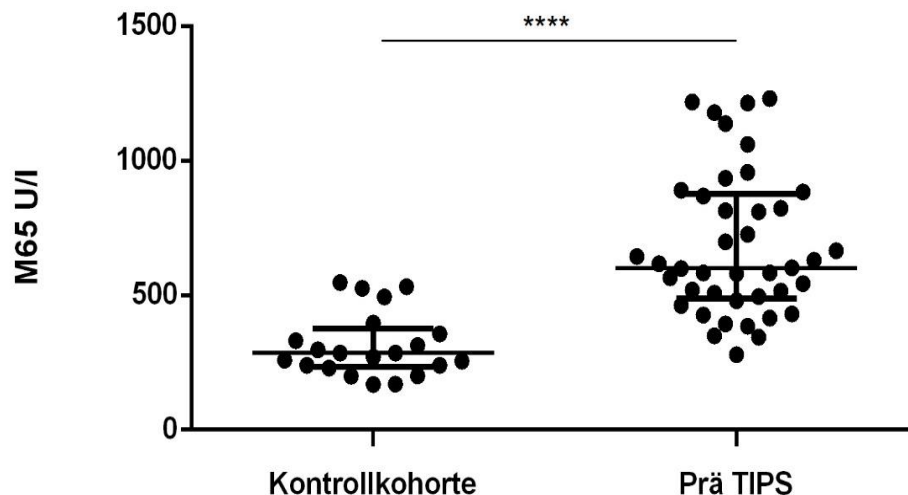


Abbildung 5: Plasmalevel von M65 bei Patienten mit kompensierter und dekomensierter Leberzirrhose. Die Plasmakonzentration des Zelltodmarkers M65 im peripheren Plasma von Patienten mit kompensierter Leberzirrhose (Kontrollkohorte, n=24) und Patienten mit einer dekomensierten Leberzirrhose vor TIPS-Anlage (Prä TIPS, n=44). Die Analyse erfolgte mit einem Mann-Whitney-U-Test. Darstellung der Daten in Median mit IQR.

In Abbildung 5 lässt sich ebenfalls ein signifikanter Unterschied der M65-Plasmakonzentration zwischen der Kontrollkohorte mit einem Median (IQR) von 284,8 (141,5) U/l und der TIPS-Kohorte mit einem Median (IQR) von 602,0 (388,5) U/l ($p < 0,0001$) messen.

So zeigen die Ergebnisse, dass eine dekomensierte Leberzirrhose im Rahmen einer CSPH mit erhöhten Plasmakonzentrationen von M30 sowie M65 im Vergleich zu Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose assoziiert ist.

4.3. Nachweis von M30 und M65 in den verschiedenen Kompartimenten

Die Gewinnung von Blut aus der Lebervene und Pfortader während des TIPS-Eingriffes stellt eine einmalige Gelegenheit der Studie dar. Neben der Messung von

M30 und M65 im peripheren Blut, konnte so auch die Analyse der Zelltodmarker in der Pfortader und Lebervene erfolgen. Nachdem eine signifikant erhöhte Konzentration der Zelltodmarker M30 und M65 im peripheren Blut von Patienten mit einer Dekompensation bei CSPH nachgewiesen werden konnte (Absatz 4.2), wurde im Folgenden untersucht, inwiefern sich M30 und M65 vor der Leber (Pfortader) beziehungsweise nach der Leber (Lebervene) in Patienten mit PH und TIPS-Anlage verhalten.

Die Konzentrationen von M30 im peripheren Plasma (vor der TIPS-Anlage), der Lebervene und der Pfortader unterscheiden sich geringfügig und nicht signifikant voneinander. Mit einem Median (IQR) von 204,8 (121,6) U/l ist die Konzentration von M30 in der Lebervene am höchsten, gefolgt von 197,8 (107,1) U/l in der Pfortader und 195,1 (151,3) U/l im peripheren Blut (Abbildung 6).

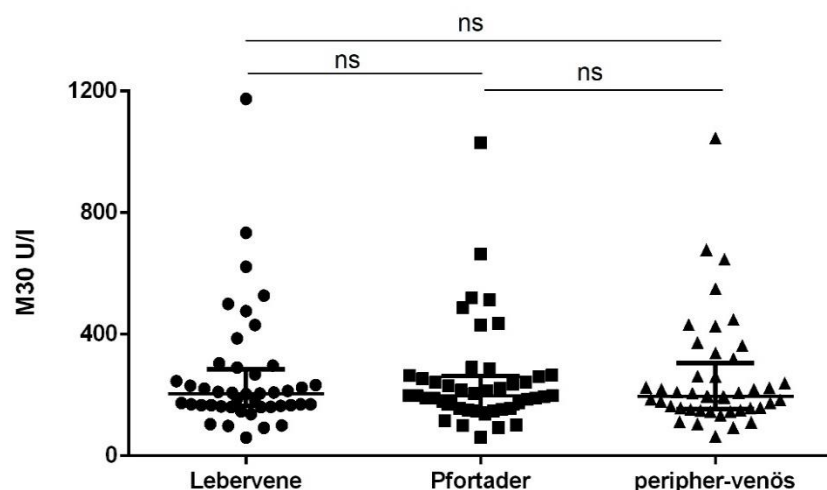


Abbildung 6: Plasmalevel von M30 in allen drei Kompartimenten bei Patienten mit PH. Die Plasmakonzentration von M30 in Patienten mit PH vor der TIPS-Anlage (peripher-venös) (n=44) und während des Eingriffes in der Lebervene und Pfortader. Die Analyse erfolgte mit einem Friedman Test. Darstellung der Daten in Median mit IQR.

In Abbildung 7 zeigt sich ein signifikanter Unterschied in der M65-Plasmakonzentration zwischen dem peripheren Plasma (623,4 (424,9) U/l) und der Lebervene (871,1 (713,5) U/l) ($p = 0,0120$) als auch zwischen dem peripheren Plasma und der Pfortader (953,0 (540,9) U/l) ($p < 0,0001$). Bei den Plasmakonzentrationen von M65 zwischen der Lebervene und der Pfortader ist kein

signifikanter Unterschied ($p = 0,6027$) messbar. Somit ist die Konzentration des Gesamtzelltodmarker M65 vor und nach der Leber höher als im peripheren Blut.

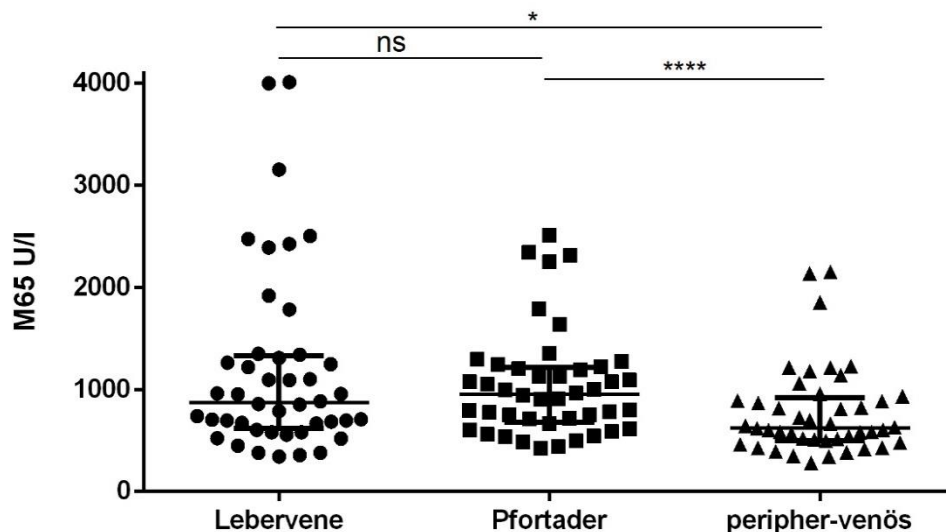


Abbildung 7: Plasmalevel von M65 in allen drei Kompartimenten bei Patienten mit PH. Die Plasmakonzentration von M65 in Patienten mit PH vor der TIPS-Anlage (peripher-venös) ($n=44$) und während des Eingriffes in der Lebervene und Pfortader. Die Analyse erfolgte mit einem Friedman Test. Darstellung der Daten in Median mit IQR.

Es zeigt sich, dass sowohl M30 als auch M65 nicht nur peripher, sondern auch in der Lebervene und Pfortader nachgewiesen worden sind. Die höchsten Konzentrationen von M65 sind in der Pfortader sowie von M30 in der Lebervene messbar. Zusätzlich liegt für M65 in der Lebervene und in der Pfortader ein hoher IQR vor, welcher eine weite Verteilung der Messwerte veranschaulicht.

4.4. Einfluss der TIPS-Anlage auf den Zelltod bei Patienten mit dekompensierter Leberzirrhose

Durch die Anlage des TIPS soll der erhöhte Pfortaderdruck reduziert werden und eine Rekompensation mit Verbesserung der Überlebensrate der Patienten erzielt werden. Die bisherigen Ergebnisse der Arbeit veranschaulichen, dass Patienten mit einer dekompensierten Leberzirrhose im Rahmen einer CSPH eine erhöhte Plasmakonzentration der Zelltodmarker M30 und M65 im Gegensatz zu Patienten mit einer kompensierten Zirrhose aufweisen. Inwiefern die TIPS-Anlage einen Einfluss auf die Zelltodmarker-Konzentrationen hat, ist unklar.

Um die Hypothese zu prüfen, dass die Senkung der PH durch eine TIPS-Anlage zu einer Reduktion der Leberschädigung, gemessen anhand der Zelltodmarker M30 und M65, führt, erfolgte die Analyse des peripheren Plasmas während des Beobachtungszeitraumes zusätzlich zu unterschiedlichen Zeitpunkten. Das short FU mit Blutentnahme erfolgte zwei bis fünf Tage nach der TIPS-Anlage. Anschließend erhielten die Patienten innerhalb von 90 Tagen nach der Anlage (early FU) sowie mehr als 90 Tage nach der Anlage (late FU) eine Blutentnahme. Abbildung 8 und Abbildung 9 zeigen die Konzentrationsveränderungen von M30 und M65 im peripheren Plasma der TIPS-Kohorte über den angegebenen Beobachtungszeitraum. Um eine Verzerrung der Ergebnisse zu vermeiden, wurden in dieser Analyse nur die Werte der Patienten inkludiert, von denen die Proben bis zum late FU vorhanden waren (n = 17).

Die Konzentration von M30 ist zum Zeitpunkt des short FU am höchsten mit einem Median (IQR) von 335,8 (378,6) U/l. Während des weiteren Beobachtungszeitraumes nach der TIPS-Anlage sinkt M30 auf einen Median (IQR) von 208,2 (103,6) U/l zum early FU. Ein signifikanter Unterschied in der M30 Konzentration besteht zwischen dem short FU und dem late FU (167,6 (108,6) U/l) ($p = 0,002$). Vor der TIPS-Anlage lag die Konzentration von M30 im Plasma bei 186,6 (74,6) U/l. Weder zwischen den Zeitpunkten Prä TIPS und early FU ($p > 0,999$) noch zwischen Prä TIPS und late FU ($p = 0,666$) besteht ein signifikanter Unterschied. So zeigt sich, dass kurz nach der TIPS-Anlage eine deutlich erhöhte Konzentration von M30 im peripheren Blut nachgewiesen wird. Die M30-Konzentration normalisiert sich und sinkt unterhalb des Ausgangsniveaus (Prä TIPS) zum Endpunkt des Beobachtungszeitraums (late FU), jedoch nicht signifikant.

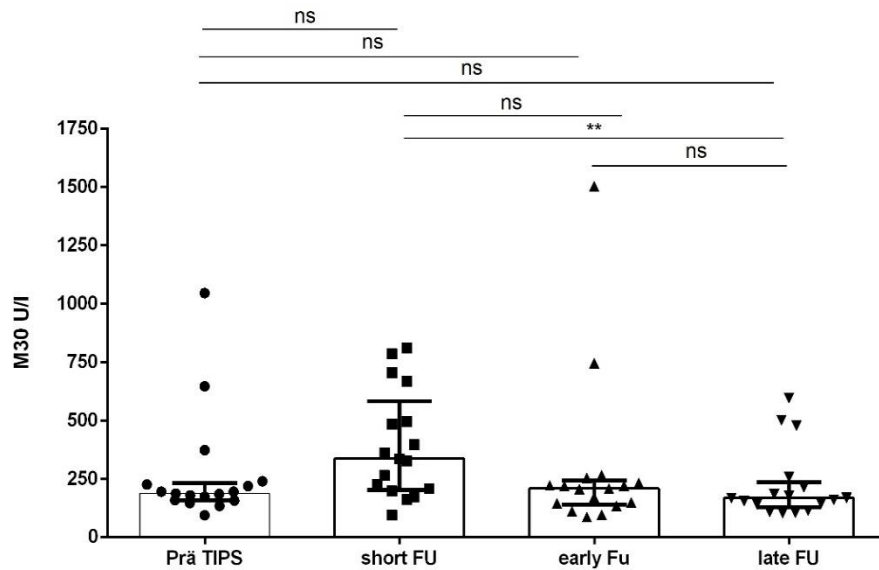


Abbildung 8: M30-Plasmakonzentration von Patienten mit einem late FU zu allen Messzeitpunkten. Die Plasmakonzentration von M30 im peripheren Plasma von Patienten mit PH vor der TIPS-Anlage (Prä TIPS), zum short, early und late FU (n = 17). Die Analyse erfolgte mit einem Friedman Test. Darstellung der Daten in Median mit IQR.

Das Verhalten der M65-Konzentration zu den Messzeitpunkten ist in Abbildung 9 dargestellt. Hierbei wird M65 mit einem Median (IQR) von 996,9 (947,1) U/I zum Zeitpunkt des short FU am höchsten gemessen, wobei ein signifikanter Unterschied zwischen den Zeitpunkten short FU und Prä TIPS (602,0 (341,8) U/I) ($p = 0,047$) gemessen wird. Bereits zum early FU sinkt die Konzentration an M65 im Plasma auf einen Median (IQR) von 651,4 (253,9) U/I signifikant zum short FU ($p = 0,013$). Zwischen den Zeitpunkten Prä TIPS und early FU besteht ein nicht-signifikanter Unterschied mit $p > 0,999$. Zum Zeitpunkt des late FU sinkt die M65-Plasmakonzentration unterhalb des Ausgangsniveaus vor der TIPS-Anlage auf 468,7 (199,2) U/I, jedoch nicht signifikant ($p = 0,067$).

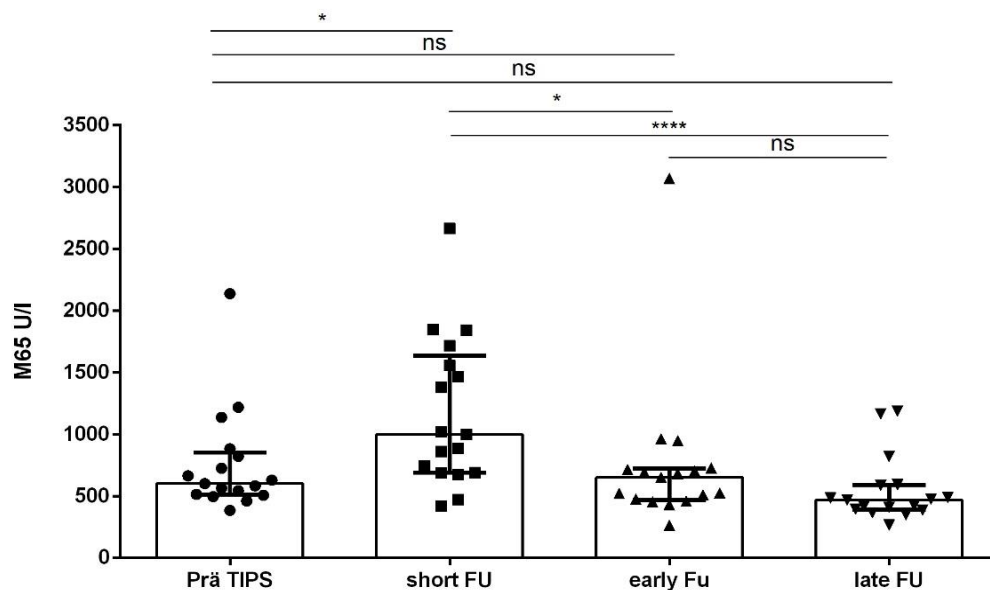


Abbildung 9: M65-Plasmakonzentration von Patienten mit einem late FU zu allen Messzeitpunkten. Die Plasmakonzentration von M65 im peripheren Plasma von Patienten mit PH vor der TIPS-Anlage (Prä TIPS), zum short, early und late FU (n = 17). Die Analyse erfolgte mit einem Friedman Test. Darstellung der Daten in Median mit IQR.

Somit führt die TIPS-Anlage initial zu einem deutlichen Anstieg der M65- und M30-Plasmakonzentration, am ehesten bedingt durch einen direkten Schaden durch die Punktion als auch anschließender Perfusionsänderung. Über den Beobachtungszeitraum sinken die Konzentrationen unterhalb des Ausgangsniveaus (Prä TIPS), jedoch nur bei Betrachtung der absoluten Werte. Ein signifikanter Unterschied der M30- und M65-Konzentration zwischen den Zeitpunkten Prä TIPS und early sowie late FU besteht nicht. Zudem ist zu beachten, dass in die Berechnung nur Patienten mit vorhandenen Blutproben zu allen FU-Zeitpunkten inklusive late FU einbezogen wurden (n = 17).

4.5. Zelltodmarker M30 und M65 bei Patienten mit kompensierter Leberzirrhose und Patienten nach TIPS-Anlage

In Abschnitt 4.4 wird deutlich, dass die Anlage des TIPS zunächst zu einem deutlichen Anstieg der M30- und M65-Konzentration führt. Im Verlauf sinken die Zelltodmarker im peripheren Blut unterhalb des Ausgangsniveaus, jedoch nicht signifikant. Um die Hypothese, dass die TIPS-Anlage zu einer Senkung der Zelltodmarker-Konzentration führt, näher zu untersuchen, wurden die einzelnen Messzeitpunkte mit der Konzentration der Kontrollkohorte verglichen. Da die FU in

dieser Analyse nicht untereinander betrachtet wurden, erfolgte die Berechnung mit allen vorliegenden Patientenproben zu den jeweiligen Zeitpunkten.

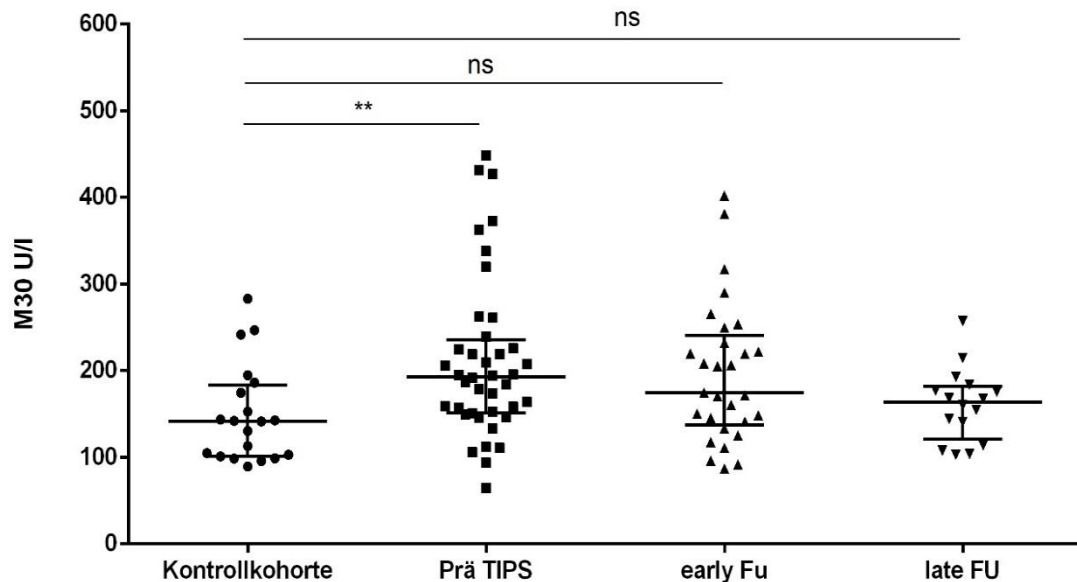


Abbildung 10: M30-Plasmakonzentration von Patienten mit kompensierter Leberzirrhose und Patienten mit PH vor sowie nach der TIPS-Anlage. Die Plasmakonzentration des Apoptosemarkers M30 im peripheren Plasma von Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose (Kontrollkohorte, n=24) und dekompenzierten Leberzirrhose vor TIPS-Anlage (Prä TIPS, n=44), zum early FU (n=32) und zum late FU (n=19). Die Analyse erfolgte mit einem Kruskal-Wallis-Test. Darstellung der Daten in Median mit IQR.

Der Vergleich vom Median (IQR) des Apoptosemarkers M30 zwischen den Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose und den Patienten mit einer TIPS-Anlage zu den jeweiligen Beobachtungszeitpunkten ist in Abbildung 10 dargestellt. Innerhalb der Kontrollkohorte beträgt der Median 141,8 (81,8) U/l. Wie bereits in Abschnitt 4.2 ist die Konzentration von M30 bei Patienten mit CSPH (Prä TIPS) signifikant höher mit einem Median (IQR) von 192,9 (84,8) U/l ($p = 0,0058$). Nach der TIPS-Anlage sinkt die M30-Konzentration auf 174,5 (103,6) U/l zum early FU und 163,9 (61,5) U/l zum late FU, sodass kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrollkohorte und der TIPS-Kohorte zum early und late FU mehr besteht. Somit sinkt M30 im peripheren Plasma nach der TIPS-Anlage auf das Niveau der kompensierten Leberzirrhosen ab.

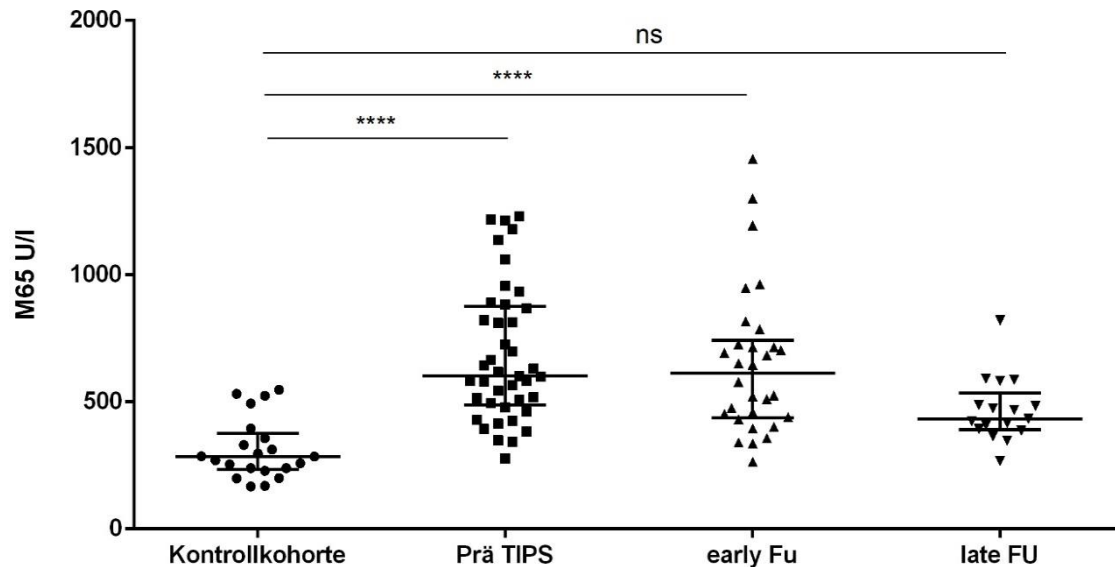


Abbildung 11: M65-Plasmakonzentration von Patienten mit kompensierter Leberzirrhose und Patienten mit PH vor sowie nach der TIPS-Anlage. Die Plasmakonzentration des Zelltodmarkers M65 im peripheren Plasma von Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose (Kontrollkohorte, n=24) und dekompenzierten Leberzirrhose vor TIPS-Anlage (Prä TIPS, n=44), zum early FU (n=32) und zum late FU (n=19). Die Analyse erfolgte mit einem Kruskal-Wallis-Test. Darstellung der Daten in Median mit IQR.

Auch die Plasmakonzentration von M65 vor der TIPS-Anlage (602,0 (388,5) U/l) unterscheidet sich signifikant zur M65-Konzentration bei Patienten mit kompensierter Leberzirrhose (284,8 (141,5) U/l) ($p < 0,0001$). Im Gegensatz zu M30 bleibt dieser signifikante Unterschied zum Zeitpunkt des early FU mit einem Median (IQR) von 612,1 (304,1) U/l bestehen ($p < 0,0001$). Erst zum late FU sinkt die M65-Konzentration auf ein nicht-signifikantes Niveau zu den kompensierten Leberzirrhosen ab. Dennoch liegt der Median (IQR) mit 433,4 (144,8) U/l deutlich über dem Median der Kontrollkohorte (siehe Abbildung 11).

Somit zeigt sich, dass im Vergleich zur Kontrollkohorte die M30- als auch M65-Konzentration im peripheren Plasma nach erfolgter TIPS-Anlage absinkt, sodass kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrollkohorte und der TIPS-Kohorte zum Zeitpunkt des late FU besteht. Im Gegensatz zu M30 sinkt die Konzentration von M65 jedoch nicht auf das Niveau der Kontrollkohorte.

4.6. Responder und Non-Responder

Obwohl der TIPS eine gute Erfolgsrate aufweist, profitieren in dieser Untersuchung nur 29 der 44 rekrutierten Patienten von diesem Eingriff (Responder), charakterisiert anhand erfolgreicher Asziteskontrolle durch die TIPS-Anlage. Die übrigen fünfzehn der 44 Patienten wurden aufgrund des Nicht-Ansprechens nach TIPS-Anlage gekennzeichnet durch therapierefraktären Aszites und/oder frühem Versterben als Non-Responder definiert.

In den Abschnitten 4.2, 4.3 und 4.4 konnte gezeigt werden, dass die Plasmakonzentrationen der Zelltodmarker bei Patienten mit PH erhöht sind und durch die Anlage des TIPS gesenkt werden. Es ist unklar, inwieweit die M30- und M65-Plasmakonzentrationen zwischen Respondern und Non-Respondern variieren und eine Aussage über das TIPS-Ansprechen treffen können.

Abbildung 12 veranschaulicht die Plasmaspiegel von M30 unterteilt in Responder und Non-Responder in den einzelnen Kompartimenten: der Lebervene, der Pfortader und im peripheren Plasma vor der TIPS-Anlage (peripher-venös). Die höchste Konzentration von M30 für die Non-Responder wurde in der Lebervene mit 230,8 (117,4) U/l gemessen, wobei die Konzentration der Respondern bei 169,6 (72,5) U/l lag. Die höchste Konzentration von M30 für die Responder wurde im Kompartiment Pfortader mit 189,8 (109,1) U/l gemessen, wobei sich die Konzentration bei den Non-Respondern auch hier nicht signifikant mit 222,4 (96,6) U/l unterscheidet. Die Tendenz zeigt sich ebenfalls im peripheren Plasma vor der TIPS-Anlage mit einem Median (IQR) für die Responder von 186,6 (129,5) U/l und Non-Responder 219,0 (153,7) U/l. Es wird deutlich, dass bei Patienten mit fehlendem TIPS-Ansprechen die Konzentration von M30 in allen Kompartimenten höher ist, als bei Patienten mit erfolgreicher Asziteskontrolle nach TIPS-Anlage, jedoch nicht-signifikant.

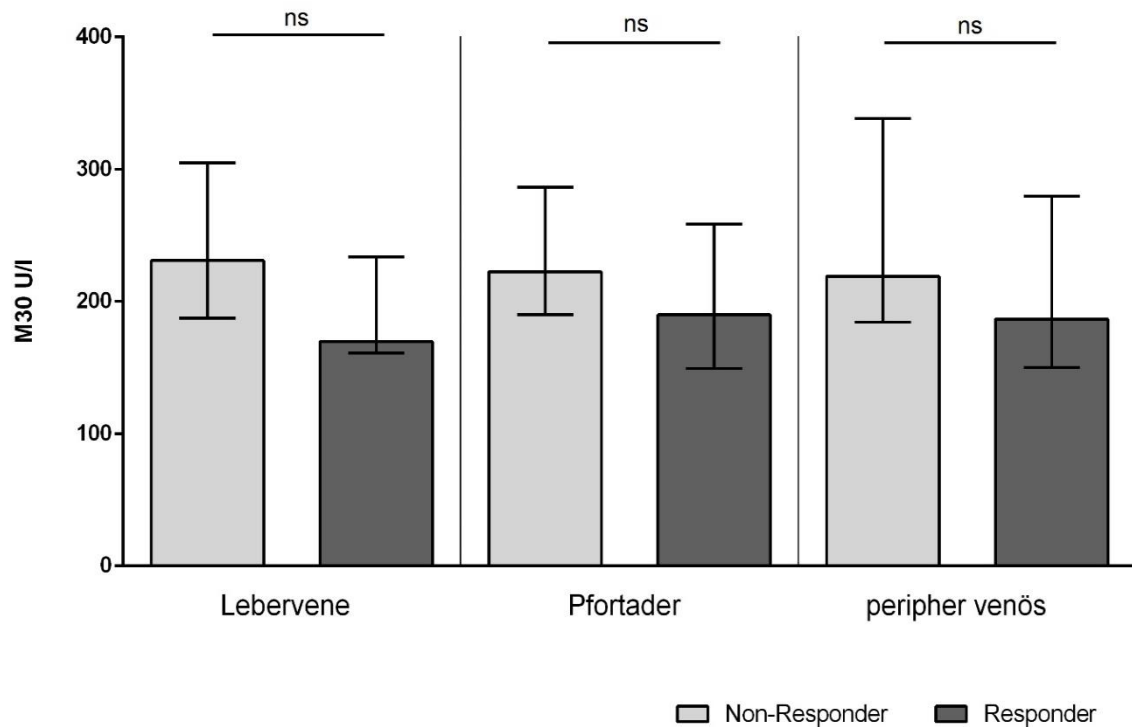


Abbildung 12: Plasmalevel von M30 unterteilt nach TIPS-Ansprechen in Lebervene, Pfortader und peripherem Plasma vor der TIPS-Anlage (peripher venös). Patienten mit erfolgreichem TIPS-Ansprechen wurden als Responder eingestuft (n=29). Patienten mit fehlendem TIPS-Ansprechen wurden anhand frühen Versterbens und therapierefraktären Aszites trotz TIPS-Anlage als Non-Responder (n=15) definiert. Die Datenanalyse erfolgte mit einem Mann-Whitney-U-Test.

Für M65 stellt sich ein ähnliches Bild für die Konzentration in der Pfortader und im peripheren Plasma zwischen Respondern und Non-Respondern dar (Abbildung 13). Mit einem Median (IQR) von 799,0 (568,4) U/I bei den Respondern und 1127,0 (523,3) U/I bei den Non-Respondern in der Pfortader, sowie einer Konzentration von M65 mit einem Median (IQR) von 582,9 (351,6) U/I bei den Respondern und 813,6 (580,9) U/I bei den Non-Respondern im peripheren Plasma wird deutlich, dass ähnlich zu M30 auch die Konzentration von M65 bei den Non-Respondern im Vergleich zu den Respondern höher ist, jedoch nicht-signifikant. Hervorzuheben ist, dass ein signifikanter Unterschied in der M65 Konzentration zwischen Responder 706,8 (530,4) U/I und Non-Responder 1264,0 (1506,7) U/I im Kompartiment Lebervene besteht ($p = 0,0104$).

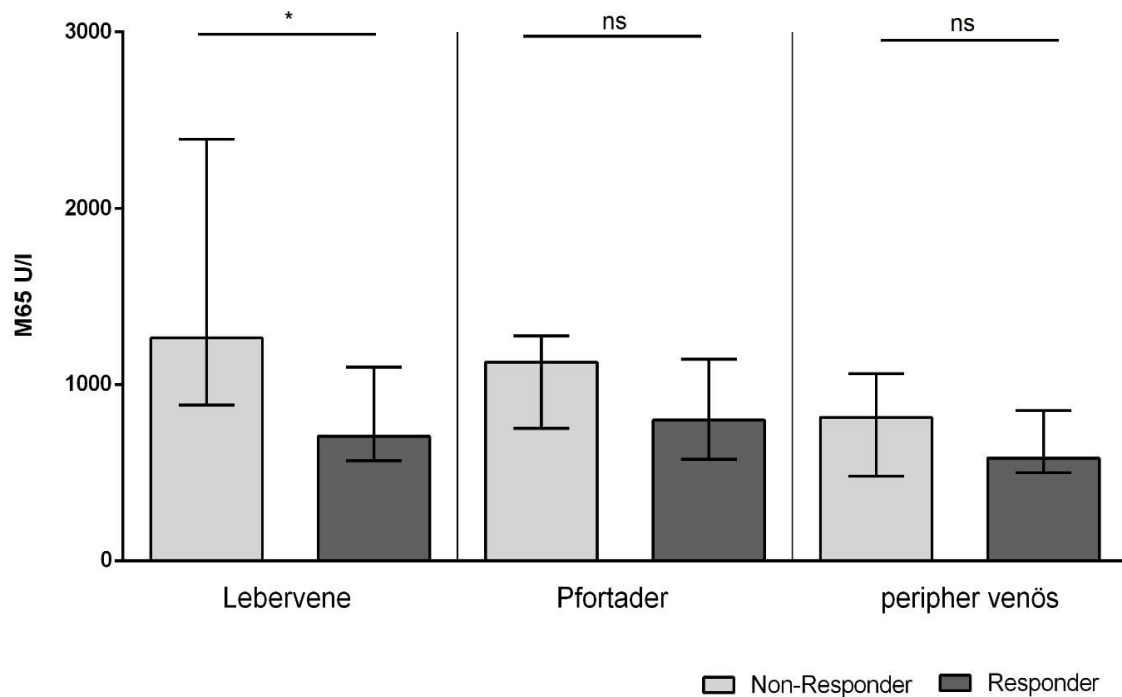


Abbildung 13: Plasmalevel von M65 unterteilt nach TIPS-Ansprechen in Lebervene, Pfortader und peripherem Plasma vor der TIPS-Anlage (peripher venös). Patienten mit erfolgreichem TIPS-Ansprechen wurden als Responder eingestuft (n=29). Patienten mit fehlendem TIPS-Ansprechen wurden anhand frühen Versterbens und therapierefraktären Aszites trotz TIPS-Anlage als Non-Responder (n=15) definiert. Die Datenanalyse erfolgte mit einem Mann-Whitney-U-Test.

Die Analyse der M30- und M65-Konzentrationen vor der TIPS-Anlage unterteilt nach Responder und Non-Responder zeigt, dass, unabhängig vom Kompartiment, die Plasmalevel von M30 und M65 bei Patienten mit fehlendem TIPS-Ansprechen höhere Werte aufweisen. Ein signifikanter Unterschied zeigt sich dabei lediglich in der Lebervene für die Konzentration von M65.

Die Hypothese, dass bei den Respondern eine signifikante Senkung von M30 und M65 während des Beobachtungszeitraumes jedoch nicht bei den Non-Respondern eintritt, soll im Folgenden untersucht werden. Hierbei ist zu beachten, dass dies jedoch nur eingeschränkt beurteilbar ist, da die Non-Responder anhand frühen Versterbens definiert sind und daher nicht für alle Non-Responder Werte für das early FU vorliegen.

Bei der Betrachtung der Plasmakonzentration von M30 und M65 bei den Respondern zeigen sich für M30 identische Ergebnisse zu denen im Kapitel 4.4, begründet durch die ähnliche Patientenauswahl ($n = 16$) und statistische Auswertung. Auf eine detaillierte Darstellung im Fließtext wird daher verzichtet. Abbildung 14 und Abbildung 15 dienen zur Veranschaulichung der Vergleiche der einzelnen Zeitpunkte von den M30 und M65-Werten der Responder.

Für M65 imponiert ein signifikanter Unterschied mit $p = 0,0372$ zwischen den Zeitpunkten Prä TIPS und dem late FU. Dies unterstützt die Hypothese, dass die TIPS-Anlage zur Reduktion der Zelltodmarkerkonzentration bei den Respondern führt.

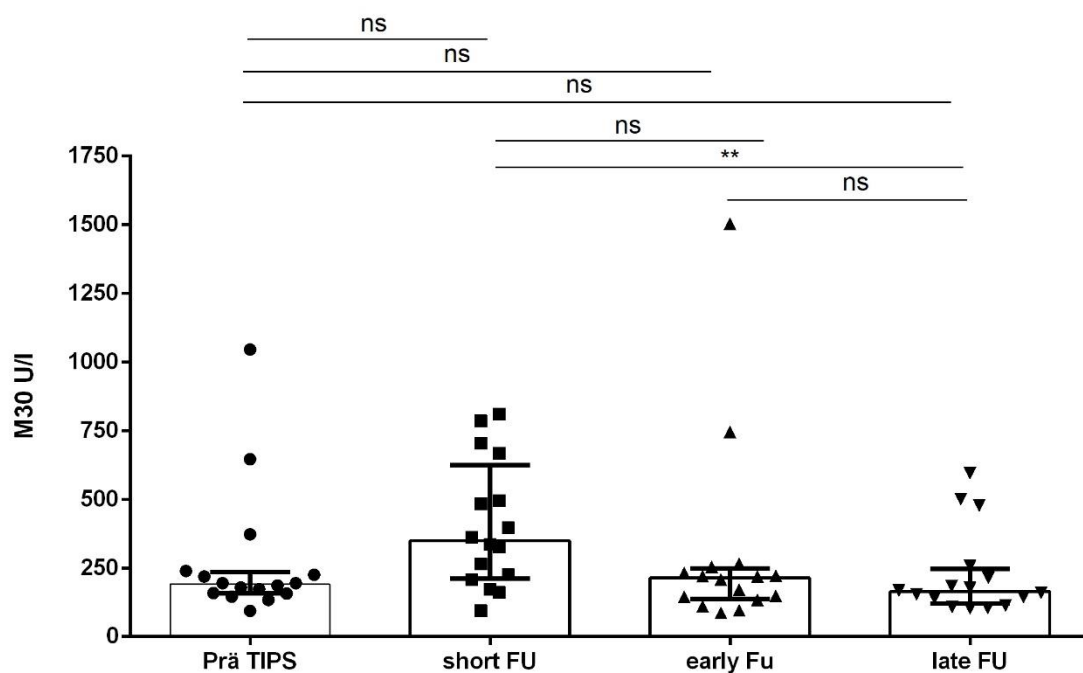


Abbildung 14: M30-Plasmakonzentration von Patienten mit erfolgreichem TIPS-Ansprechen zu den Messzeitpunkten Prä TIPS, short, early und late FU. Die Plasmakonzentration von M30 im peripheren Plasma der Responder mit Werten zu allen Messzeitpunkten vor der TIPS-Anlage, zum short, early und late FU ($n = 16$). Die Analyse erfolgte mit einem Friedman Test. Darstellung der Daten in Median mit IQR.

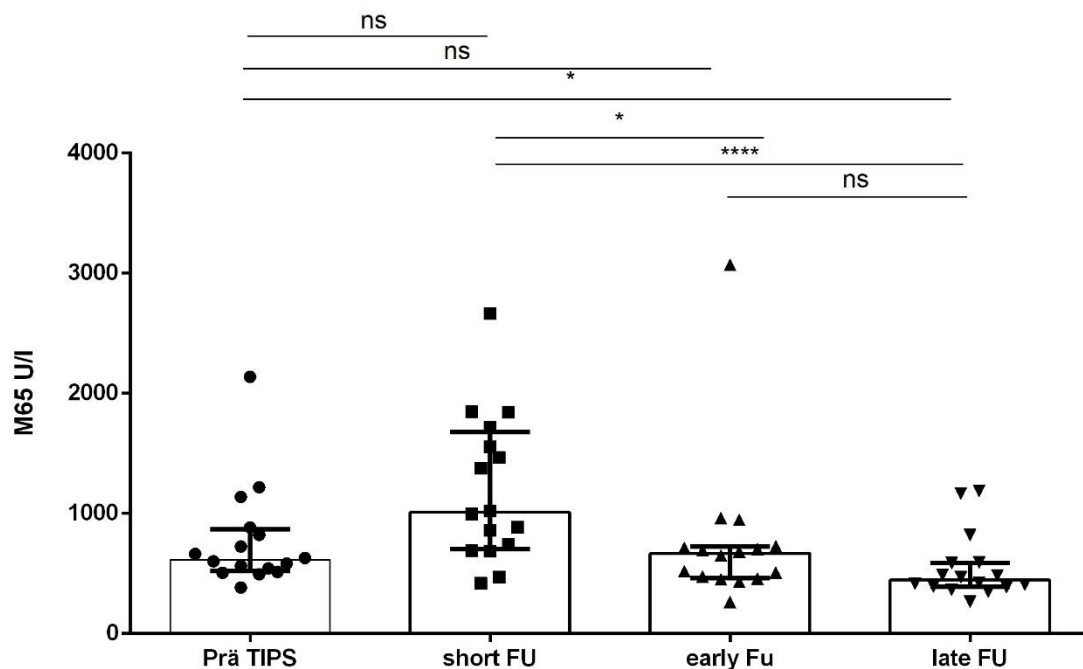


Abbildung 15: M65-Plasmakonzentration von Patienten mit erfolgreichem TIPS-Ansprechen zu den Messzeitpunkten Prä TIPS, short, early und late FU. Die Plasmakonzentration von M30 im peripheren Plasma der Responder mit Werten zu allen Messzeitpunkten vor der TIPS-Anlage, zum short, early und late FU (n = 16). Die Analyse erfolgte mit einem Friedman Test. Darstellung der Daten in Median mit IQR.

Der Vergleich der Konzentrationen für M30 und M65 zu den verschiedenen Zeitpunkten für die Non-Responder ist in den Abbildung 16 und Abbildung 17 abgebildet (n = 8). Sowohl für M30 als auch M65 lassen sich keine signifikanten Unterschiede darstellen. Insgesamt konnten die Daten von acht Non-Respondern zum Zeitpunkt des early FU erhoben werden. Für M30 lag der Median (IQR) zum Zeitpunkt des short FU bei 208,6 (193,2) U/l, zum early FU bei 189,9 (146,1) U/l und vor der TIPS-Anlage bei 205,2 (266,4) U/l, jeweils nicht signifikant (siehe Abbildung 16). Für die Konzentration von M65 lag der Median (IQR) zum Zeitpunkt des short FU bei 886,9 (951,3) U/l, zum early FU bei 680,6 (827,2) U/l und vor der TIPS-Anlage bei 713,4 (637,3) U/l, jeweils nicht signifikant (siehe Abbildung 17).

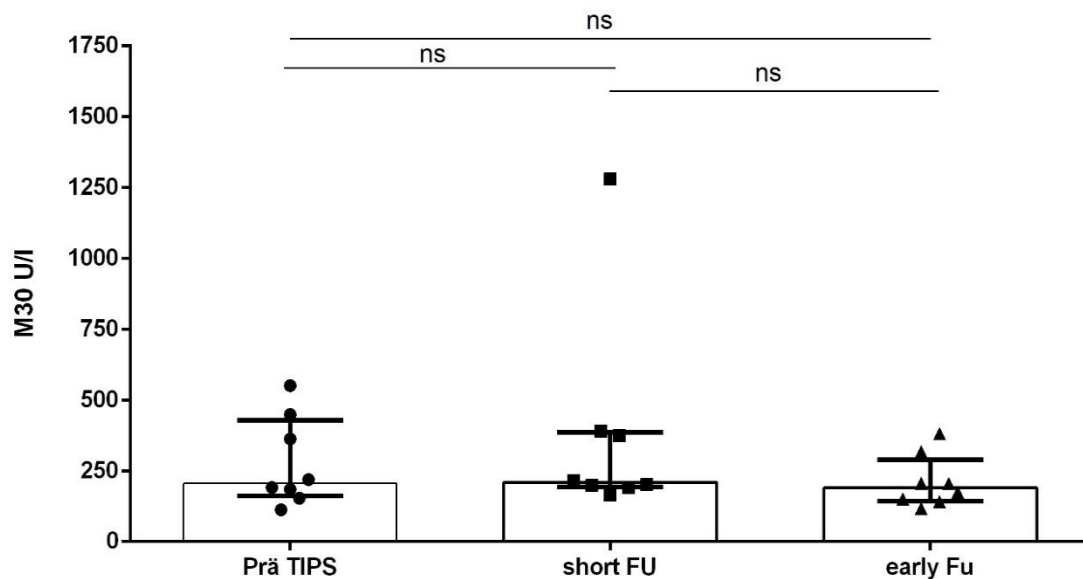


Abbildung 16: M30-Plasmakonzentration von Patienten mit fehlendem TIPS-Ansprechen und early FU zu den Messzeitpunkten Prä TIPS, short und early FU. Die Plasmakonzentration von M30 im peripheren Plasma der Non-Responder vor der TIPS-Anlage, zum short und early FU (n = 8). Die Analyse erfolgte mit einem Friedman Test. Darstellung der Daten in Median mit IQR.

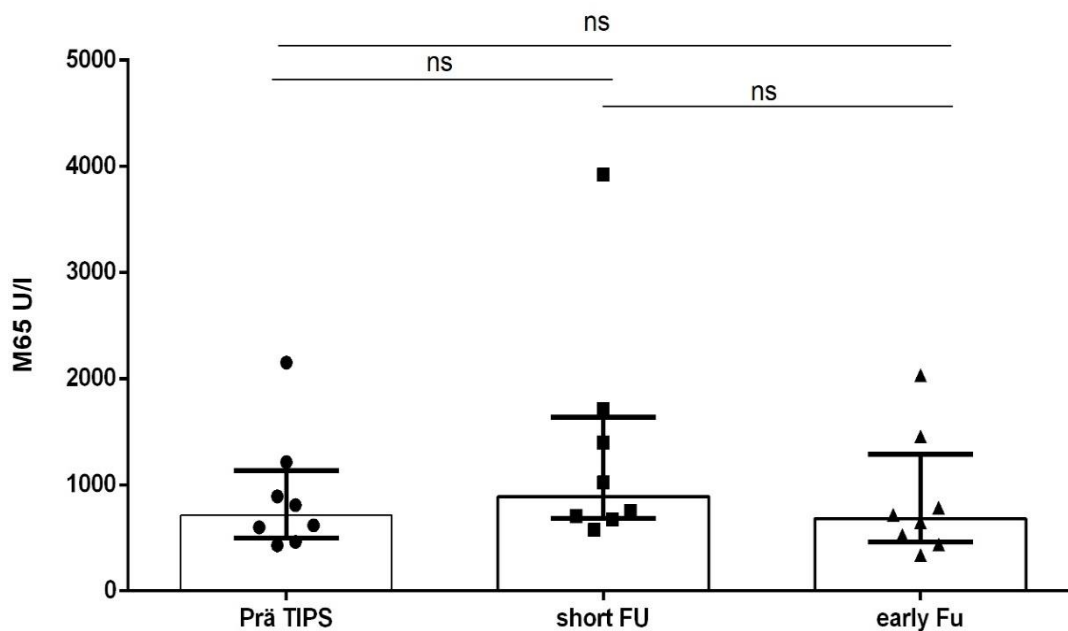


Abbildung 17: M65-Plasmakonzentration von Patienten mit fehlendem TIPS-Ansprechen und early FU zu den Messzeitpunkten Prä TIPS, short und early FU. Die Plasmakonzentration von M65 im peripheren Plasma der Non-Responder vor der TIPS-Anlage, zum short und early FU (n = 8). Die Analyse erfolgte mit einem Friedman Test. Darstellung der Daten in Median mit IQR.

In Abbildung 18 sind die Konzentrationen für M30 zum short und early FU unterteilt nach Responder (n = 28 zum short FU; n = 24 zum early FU) und Non-Responder (n = 14 zum short FU; n = 8 zum early FU) dargestellt. Zu beiden Zeitpunkten liegt die M30-Plasmakonzentration von den Responder in einem höheren Bereich im Vergleich zu den Non-Respondern. Mit $p = 0,7309$ zum short FU und $p = 0,8243$ zum early FU besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Patientengruppen zu beiden Zeitpunkten für M30.

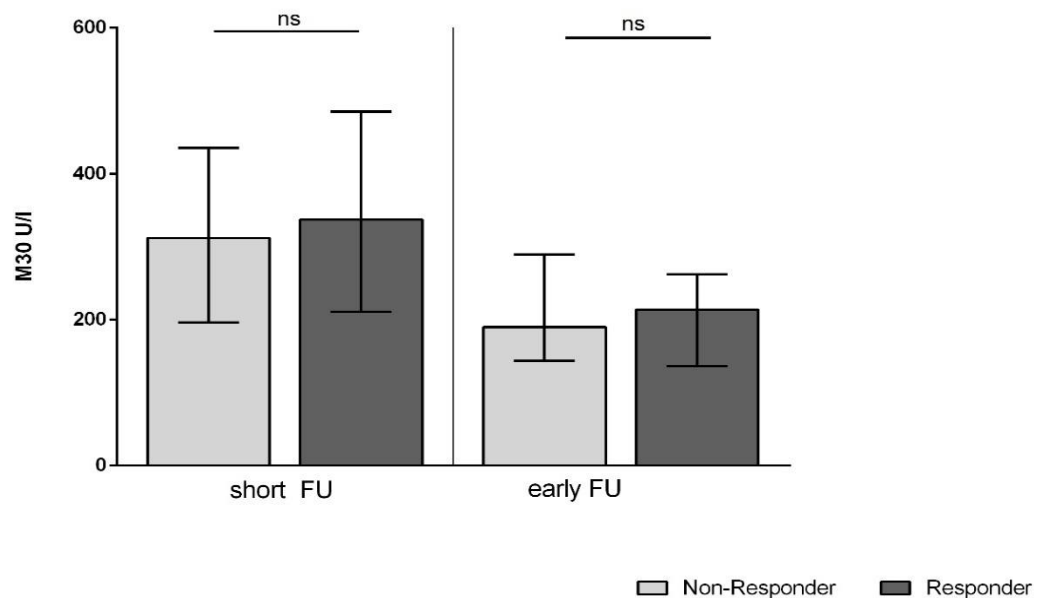


Abbildung 18: Plasmalevel von M30 unterteilt nach TIPS-Ansprechen zum short und early FU. Patienten mit erfolgreichem TIPS-Ansprechen wurden als Responder (n = 28 zum short FU; n = 24 zum early FU) eingestuft. Patienten mit fehlendem TIPS-Ansprechen wurden anhand frühen Versterbens und therapierefraktären Aszites trotz TIPS-Anlage als Non-Responder (n = 14 zum short FU; n = 8 zum early FU) definiert. Die Datenanalyse erfolgte mit einem Mann-Whitney-U-Test.

Im Gegensatz dazu lässt sich für die Konzentration von M65 eine höhere Konzentration für die Non-Responder darstellen (siehe Abbildung 19), jedoch auch mit nicht signifikantem Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p = 0,4401$ short FU; $p = 0,5633$ early FU).

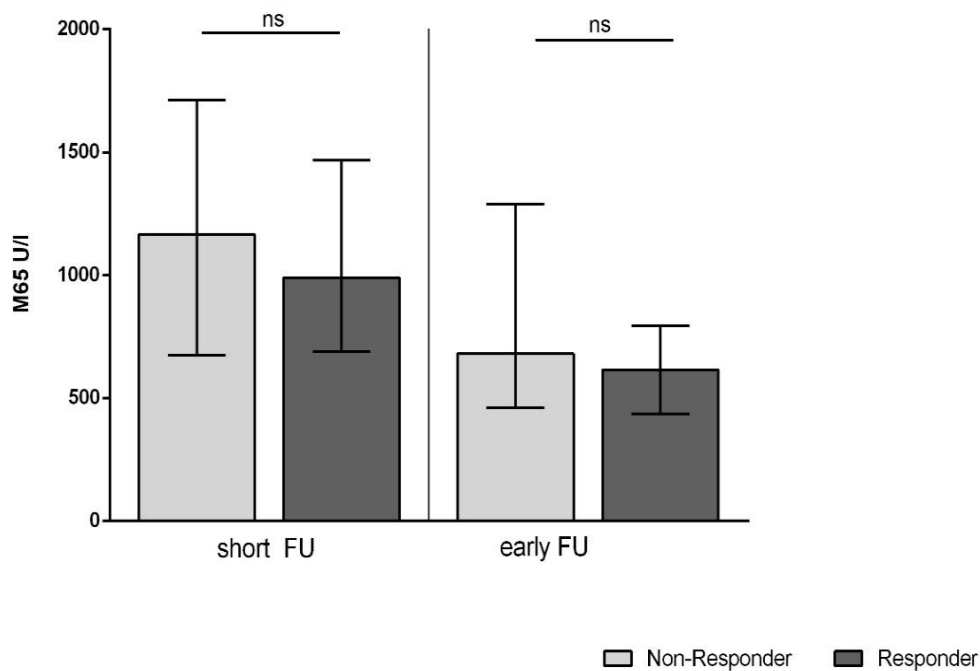


Abbildung 19: Plasmalevel von M65 unterteilt nach TIPS-Ansprechen zum short und early FU.

Patienten mit erfolgreichem TIPS-Ansprechen wurden als Responder (n = 28 zum short FU; n = 24 zum early FU) eingestuft. Patienten mit fehlendem TIPS-Ansprechen wurden anhand frühen Versterbens und therapierefraktären Aszites trotz TIPS-Anlage als Non-Responder (n = 14 zum short FU; n = 8 zum early FU) definiert. Die Datenanalyse erfolgte mit einem Mann-Whitney-U-Test.

Somit lässt sich zeigen, dass eine Analyse unterteilt nach Responder und Non-Respondern zu den unterschiedlichen Zeitpunkten nur eingeschränkt beurteilbar ist. Zum einen liegt dies an der Definition der Non-Responder. Zum anderen hat die geringe Fallzahl einen großen Einfluss. Für M30 als auch M65 zeigt sich eine eher konstante Konzentration zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten für die Non-Responder. Zudem imponiert bei Betrachtung der absoluten Werte eine höhere Konzentration von M30 für die Responder. Dies zeigt sich gegensätzlich für M65. Zusätzlich stellt sich bei Patienten mit erfolgreichem TIPS-Ansprechen für M65 eine signifikante Senkung der Konzentration nach TIPS-Anlage zum late FU dar.

4.7. Korrelationsanalysen

4.7.1. TIPS-Kohorte

Wie in Kapitel 2.4.3 beschrieben, konnten verschiedene Studien Korrelationen zwischen den Konzentrationen von M30 als auch M65 im peripheren Plasma und verschiedenen klinischen Scores sowie serologischen Parametern feststellen. Dies soll nun im Folgenden bei Patienten mit CSPH und dekompenzierter Leberzirrhose analysiert werden. Tabelle 7 und Tabelle 8 fassen die Korrelationskoeffizienten von M30 beziehungsweise M65 mit den verschiedenen Scores, Druckparametern und Laborparametern der Patienten, die einen TIPS am UKE innerhalb des Beobachtungszeitraums erhalten haben, zusammen.

Tabelle 7: Korrelationskoeffizienten der Analyse von M30 mit klinischen Scores, Druckparametern sowie Laborparametern.

Parameter	Korrelationskoeffizient p
M30 mit	
CLIF-C AD Score	0,199
MELD-Score	0,206
MELDNa	0,265
CP points	0,269
HVPG prä TIPS	0,155
Pfortaderdruck prä TIPS	0,170
Lebervenenendruck prä TIPS	0,182
HbA1c	0,129
Bilirubin	0,111
GOT	0,291
GPT	0,231
γGT	0,162
Albumin	-0,305*
Alkalische Phosphatase	0,73
CRP	- 0,152
Leukozyten	-0,019
Kreatinin	0,300*
Kalium	0,235

Natrium	-0,220
Fibrinogen	-0,132
INR	-0,126
Thrombozyten	-0,019
*: Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig) CLIF-C AD Score, CLIF Consortium Acute Decompensation Score; CP, Child-Pugh; CRP, C-reaktives Protein; GOT, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase; GPT, Glutamat-Pyruvat-Transaminasen; HVPg, Hepatisch-venöser Druckgradient; INR, International Normalized Ratio; MELD, Model for end-stage liver disease; γ GT, Gamma-GT	

Eine klinisch relevante Korrelation mit einem Korrelationskoeffizienten $p > 0,5$ sind weder für die periphere Plasmakonzentration von M30 noch von M65 für die gesamte TIPS-Kohorte aufzuzeigen. Dennoch lässt sich eine signifikante Korrelation von M30 mit Kreatinin und Albumin darstellen. Die Konzentration von M30 und Albumin korrelieren negativ zueinander. Steigt M30 an, so sinkt die Albumin-Konzentration. Des Weiteren korreliert M30 mit einer erhöhten Kreatinin-Konzentration.

Tabelle 8: Korrelationskoeffizienten der Analyse von M65 mit klinischen Scores, Druckparametern sowie Laborparametern.

Parameter	Korrelationskoeffizient p
M65 mit	
CLIF-C AD Score	0,339*
MELD-Score	0,270
MELDNa	0,310*
CP points	0,098
HVPg prä TIPS	0,000
Pfortaderdruck prä TIPS	0,058
Lebervenenendruck prä TIPS	0,149
HbA1c	0,171
Bilirubin	0,017
GOT	0,373*
GPT	0,346*
γ GT	0,386**
Albumin	-0,185
Alkalische Phosphatase	0,134
CRP	-0,030

Leukozyten	0,000
Kreatinin	0,415**
Kalium	0,271
Natrium	-0,255
Fibrinogen	-0,041
INR	-0,144
Thrombozyten	-0,130
*: Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig). **: Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig) CLIF-C AD Score, CLIF Consortium Acute Decompensation Score; CP, Child-Pugh; CRP, C-reaktives Protein; GOT, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase; GPT, Glutamat-Pyruvat-Transaminasen; HVPg, Hepatisch-venöser Druckgradient; INR, International Normalized Ratio; MELD, Model for end-stage liver disease; γ GT, Gamma-GT	

Eine signifikante Korrelation zeigt sich ebenfalls zwischen M65 und den Laborparametern GOT, GPT, γ GT und Kreatinin sowie M65 und den Scores CLIF-C AD und MELDNa. Als Indikatoren für eine Leberzellschädigung dienen GOT, GPT und γ GT. Eine positive Korrelation zwischen diesen Parametern und dem Gesamtzelltod lässt sich hierbei nur in geringem Maße aufzeigen. Der Korrelationskoeffizient von M65 und Kreatinin ist jedoch mit $p = 0,415$ etwas höher.

4.7.2. Responder und Non-Responder

Nachdem für die TIPS-Kohorte Korrelationen mit geringer klinischer Relevanz zwischen der peripheren Konzentration der Zelltodmarker und klinischen Parametern berechnet werden konnte, soll die Unterteilung der Kohorte nach dem TIPS-Ansprechen Erkenntnisse darüber zeigen, ob die Korrelationen je nach Outcome der Patienten variieren. Tabelle 9 zeigt die Korrelationskoeffizienten von M30 und verschiedenen prognostischen Scores, Druckparametern sowie Laborparametern unterteilt nach Responder und Non-Responder.

Tabelle 9: Korrelationskoeffizienten zur Analyse von M30 unterteilt nach Respondern und Non-Respondern.

Parameter	Korrelationskoeffizient ρ	
	Responder (n=29)	Non-Responder (n=15)
M30 mit		
CLIF-C AD Score	0,069	0,435
MELD-Score	0,072	0,433

MELDNa	0,249	0,218
CP points	0,300	0,153
HVPG prä TIPS	0,203	-0,088
Pfortaderdruck prä TIPS	0,318	-0,172
Lebervenenendruck prä TIPS	0,301	-0,091
HbA1c	0,105	0,183
Bilirubin	0,079	0,202
GOT	0,319	0,223
GPT	0,244	0,164
γGT	0,023	0,343
Albumin	-0,270	-0,325
Alkalische Phosphatase	-0,058	0,289
CRP	-0,303	0,244
Leukozyten	-0,224	0,633*
Kreatinin	0,195	0,438
Kalium	0,364	-0,217
Natrium	-0,282	-0,054
Fibrinogen	-0,119	-0,139
INR	-0,176	-0,025
Thrombozyten	-0,172	0,439
*: Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig) CLIF-C AD Score, CLIF Consortium Acute Decompensation Score; CP, Child-Pugh; CRP, C-reaktives Protein; GOT, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase; GPT, Glutamat-Pyruvat-Transaminasen; HVPG, Hepatisch-venöser Druckgradient; INR, International Normalized Ratio; MELD, Model for end-stage liver disease; γGT, Gamma-GT		

Durch die Unterteilung der Patienten nach ihrem TIPS-Ansprechen in Responder und Non-Responder zeigen sich bei der Korrelation mit der M30-Plasmakonzentration deutliche Unterschiede. Hierbei korreliert die periphere Konzentration von M30 bei den Respondern mäßig mit dem Punktwert des CPS, Pfortaderdruck und Lebervenenendruck vor TIPS-Anlage sowie GOT, CRP und Kalium.

Im Gegensatz dazu lassen sich weitere Korrelationen von M30 bei den Non-Respondern darstellen. Sowohl CLIF-C AD Score und MELD-Score als auch γGT, Albumin, Kreatinin und die Thrombozytenzahl korrelieren mäßig mit M30. Weiterhin

stellt sich die zwar zu vernachlässigbare aber auffällig negative Korrelation von M30 und den Druckparametern dar. Eine relevante positive Korrelation zeigt sich bei den Non-Respondern zwischen der M30-Konzentration und der Leukozytenzahl.

Wie bei M30 wurde für die Konzentration von M65 ebenfalls eine Korrelationsanalyse unterteilt nach Responder und Non-Responder durchgeführt und in Tabelle 10 visualisiert.

Tabelle 10: Korrelationskoeffizienten von der Analyse mit M65 für Responder und Non-Responder.

Parameter	Korrelationskoeffizient ρ	
	Responder (n=29)	Non-Responder (n=15)
M65 mit		
CLIF-C AD Score	0,266	0,343
MELD-Score	0,209	0,284
MELDNa	0,310	0,100
CP points	0,205	-0,234
HVPG prä TIPS	0,032	-0,314
Pfortaderdruck prä TIPS	0,213	-0,386
Lebervenenendruck prä TIPS	0,417*	-0,292
HbA1c	0,012	0,375
Bilirubin	0,071	-0,081
GOT	0,443*	0,256
GPT	0,413*	0,150
γ GT	0,306	0,507
Albumin	-0,242	-0,146
Alkalische Phosphatase	0,092	0,232
CRP	-0,256	0,412
Leukozyten	-0,048	0,249
Kreatinin	0,299	0,577*
Kalium	0,429*	-0,244
Natrium	-0,310	-0,040
Fibrinogen	-0,172	0,295
INR	-0,100	-0,173

Thrombozyten	-0,101	0,089
*: Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig) CLIF-C AD Score, CLIF Consortium Acute Decompensation Score; CP, Child-Pugh; CRP, C-reaktives Protein; GOT, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase; GPT, Glutamat-Pyruvat-Transaminasen; HVPg, Hepatisch-venöser Druckgradient; INR, International Normalized Ratio; MELD, Model for end-stage liver disease; γ GT, Gamma-GT		

Die Korrelationsanalysen veranschaulicht bei den Respondern zwischen M65 und MELDNa, Lebervenenendruck vor TIPS-Anlage, GOT, GPT sowie Kalium eine geringe Korrelation ($0,30 < p < 0,50$).

Bei den Non-Respondern lässt sich eine moderate Korrelation von M65 mit γ GT ($p = 0,507$) und Kreatinin ($p = 0,577$) darstellen. Mäßig korreliert M65 bei den Non-Respondern mit dem CLIF-C AD Score, HbA1c und CRP ($0,30 < p < 0,50$). Wie für die Konzentration von M30 zeigt sich auch bei M65 eine dezent negative Korrelation mit dem invasiv gemessenen vasalen Drücken.

4.8. Prädiktionsmodell TIPS-Ansprechen

Inwiefern die Zelltodmarker M30 und M65 vorhersagen können, ob ein Patient von der TIPS-Anlage profitieren kann oder nicht, ist derzeit unbekannt. Aus diesem Grund wurden die peripher-venösen Plasmalevel von M30 und M65 vor der TIPS-Anlage im Hinblick auf deren Eignung als Prädiktionsmarker untersucht. Die Hypothese lautet, dass eine Erhöhung von M30 und beziehungsweise oder M65 über einen bestimmten Wert mit einem fehlenden TIPS-Ansprechen assoziiert ist.

Aufgrund der geringen Fallzahl bei den Non-Respondern (n = 15) ist die Analyse von mehr als zwei unabhängigen Variablen nicht möglich. Aus diesem Grund wurden weitere Parameter wie Alter, Geschlecht und MELD-Score nicht in die Berechnung miteinbezogen.

Zunächst zeigt die Klassifizierungstabelle (siehe Tabelle 11), dass 27 der 29 Responder (93,1 %) und drei der 15 Non-Responder (20 %) durch das Prädiktionsmodell korrekt vorhergesagt werden können. Somit liegt der Anteil der korrekten Zuordnungen der Patienten zu ihren Gruppen insgesamt bei 68,2 %. Zwar wird das TIPS-Ansprechen bei den Respondern relativ gut vorhergesagt, dennoch liegt die Rate bei den Non-Respondern deutlich niedriger. Ein großer Teil der Non-Responder werden durch dieses Prädiktionsmodell nicht erkannt und fälschlicherweise den Respondern zugeteilt.

Tabelle 11: Klassifizierungstabelle (peripheres Plasma)

	Responder	Non-Responder	Prozentsatz der Richtigen [%]
Responder	27	2	93,1
Non-Responder	12	3	20,0
Gesamtprozentsatz			68,2

Zur Beurteilung der Aussagekraft des Modells dient die Analyse des Nagelkerke R-Quadrats. Dieses gibt an, inwiefern das Regressionsmodell die Variable (Responder/ Non-Responder) erklärt. Das Nagelkerke R-Quadrat variiert zwischen den Werten 0 und 1, wobei ab einem Wert von über 0,6 eine deutliche Aussagekraft des Prädiktionsmodell vorliegt. In dieser Studie verdeutlicht das Nagelkerke R-Quadrat mit 0,065 die sehr geringe Aussagekraft des Prädiktionsmodells.

Zur Beurteilung, inwiefern eine Erhöhung von M30 beziehungsweise M65 zu einer Erhöhung der Wahrscheinlichkeit führt, dass die Patienten nicht auf den TIPS ansprechen, dienen der Regressionskoeffizient B und Exp(B) als Odds Ratio. Ist B gleich 0, so können weder M30 noch M65 eine Aussage zur Berechnung des TIPS-Ansprechens treffen. Für M30 betrug B -0,003 und die Odds Ratio 0,997. Dies bedeutet, dass bei einem Anstieg von M30 um 1 U/l die Wahrscheinlichkeit um 0,3 % geringer ist, dass der Patient nicht auf den TIPS ansprechen wird (siehe Tabelle 12).

Für M65 lag B bei 0,002 und die Odds Ratio bei 1,002. Somit zeigt sich, dass die Wahrscheinlichkeit ein Non-Responder zu sein, um 0,2 % ansteigt, wenn M65 um einen Punkt steigt (siehe Tabelle 12).

Tabelle 12: Prädiktionsmodell anhand logistischer Regression (peripheres Plasma)

	Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Wald	Df	Signifikanz	Exp(B)
M30	-0,003	0,003	1,097	1	0,295	0,997
M65	0,002	0,001	1,919	1	0,166	1,002
Konstante	-1,182	0,686	2,963	1	0,085	0,307
Df, Anzahl der Freiheitsgrade						

Da ein Anstieg von M65 und M30 einen geringen Effekt auf die Wahrscheinlichkeitsberechnung zeigt, wurden die Werte über den Logarithmus von zehn umgewandelt. Hierbei ergaben die Berechnungen jedoch nicht verwertbare Werte.

Aufgrund der geringen Patientenzahl und der erhöhten Rate an falschen Zuordnungen von Non-Respondern zu den Respondern wird deutlich, dass ein Prädiktionsmodell anhand der peripheren Konzentration von M30 und M65 in dieser Studienpopulation nicht möglich ist.

Da in Kapitel 4.6 gezeigt werden konnte, dass der Konzentrationsunterschied von M65 zwischen Responder und Non-Responder in der Lebervene am höchsten ist, erfolgt im zweiten Schritt die Erstellung eines Prädiktionsmodells für das TIPS-Versagen anhand der invasiv gemessenen Konzentrationen von M30 und M65 in der Lebervene. Anhand der in Tabellen Tabelle 13 und

Tabelle 14 wird deutlich, dass sich die Konzentration von M30 und M65 in der Lebervene ebenfalls nicht für die Entwicklung eines Prädiktionsmodells eignet.

Tabelle 13: Klassifizierungstabelle (Lebervene)

	Responder	Non-Responder	Prozentsatz der Richtigen [%]
Responder	27	2	93,1
Non-Responder	11	4	26,7
Gesamtprozentsatz			70,5

Tabelle 14: Prädiktionsmodell anhand logistischer Regression (Lebervene)

Lebervene	Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Wald	Df	Signifikanz	Exp(B)
M30	-0,001	0,002	0,493	1	0,483	0,999
M65	0,001	0,000	4,323	1	0,038	1,001
Konstante	-1,522	0,671	5,146	1	0,023	0,218
Df, Anzahl der Freiheitsgrade						

5. Diskussion

In der vorliegenden Doktorarbeit wurden die Zelltodmarker M30 und M65 bei Patienten mit CSPH und TIPS-Anlage untersucht. Das Ziel dieser Arbeit war es, zu analysieren, ob (1) ein Circulus vitiosus aus PH, hepatischem Zelltod und Fortschreiten der Leberfibrose besteht, (2) die Korrektur der PH durch die TIPS-Anlage zu einer Abnahme des Zelltods führt, (3) Patienten mit einem schwereren Leberschaden ein schlechteres TIPS-Ansprechen aufweisen und (4) die Konzentration der Zelltodmarker M30 und M65 mit dem TIPS-Ansprechen assoziiert ist.

Die PH ist durch eine Erhöhung des Pfortaderdruckes charakterisiert. Eine bedeutende intrahepatische Ursache der PH ist die Leberzirrhose, welche bei Vorhandensein von Komplikationen wie Aszites und Ösophagusvarizenblutungen als dekompensiert bezeichnet wird. Patienten mit einer dekompensierten Leberzirrhose weisen eine deutlich höhere Mortalitätsrate auf, sodass eine effektive Therapie entscheidend für das Überleben der Patienten ist. Hierbei ist die TIPS-Anlage, bei der eine künstliche Verbindung zwischen der Pfortader und einer Lebervene hergestellt wird, eine wichtige Therapiemöglichkeit zur Reduktion der PH. Die Zelltodmarker M30 und M65 spiegeln den hepatischen Zelltod wider und sind bei verschiedensten Lebererkrankungen von prognostischer Bedeutung. Inwiefern die portale Hypertension einen Einfluss auf den (hepatischen) Zelltod bei Patienten mit hydropisch dekompensierter Leberzirrhose aufweist, ist unklar.

In dieser Arbeit wurden Patienten mit einer hydropisch dekompensierten Leberzirrhose im Rahmen einer CSPH und geplanter TIPS-Anlage sowie Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose als Kontrollkohorte eingeschlossen. Innerhalb der TIPS-Kohorte ist die häufigste Ursache der Leberzirrhose die ALD, gefolgt von der NASH (siehe Tabelle 5), welche die Hauptursachen der Leberzirrhose neben der viralen Hepatitis sind (Zhou et al. 2014). In dieser Studie wurden Patienten mit hydropischer Dekompensation im Rahmen einer PH bei zugrundeliegender Leberzirrhose unabhängig von der Ätiologie eingeschlossen. Dies stellt ein besonderes Merkmal dar. Bisherige Studien haben M30 und M65 anhand einer speziellen Ätiologie, beispielsweise NAFLD, untersucht. Im

Gegensatz dazu werden in dieser Arbeit die Zelltodmarker bei Patienten mit unterschiedlichster Ätiologie betrachtet. Dennoch liegt bei 70 % der Studienkohorte der PH eine ALD zugrunde.

Im Vergleich zur Kontrollkohorte kann bei der TIPS-Kohorte anhand der Laborparameter als auch der Klinik das typische Bild einer hydropisch dekompenzierten Leberzirrhose dargestellt werden. Dies lässt sich anhand eines erhöhten MELD-Scores und CPS sowie der veränderten Laborparameter wie vermindertem Albumin und Thrombozytenzahl charakterisieren. Des Weiteren zeigen die gesammelten klinischen Daten, dass der HVPG durch die TIPS-Anlage deutlich gesenkt wird (siehe Tabelle 6).

5.1. Assoziation der Zelltodmarker M30 und M65 mit portaler Hypertension

Die gefährlichsten und lebensbedrohlichsten Komplikationen der Leberzirrhose beruhen auf der PH. Obwohl die TE zum Screening der PH dienen kann (De Franchis et al. 2022), werden Patienten mit einer PH häufig erst identifiziert, wenn schwerwiegende Komplikationen klinisch in Erscheinung treten. Diese sind mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität assoziiert (Karkmann et al. 2018). Zusätzlich ist die quantitative Messung des Pfortaderdrucks mittels HVPG eine invasive Methode, welche nur in spezialisierten Zentren durchgeführt wird (Lee 2017). Aus diesem Grund ist die Entwicklung von einfach bestimmbarer serologischen Markern zur Diagnostik der PH ein wichtiger Aspekt derzeitiger Forschungen.

Bei akuten und chronischen Schädigungen der Leber kommt es zum vermehrten Zelltod und zur Fibrogenese, die im schlimmsten Fall zur Zirrhose führen. Es ist denkbar, dass die PH zu weiterem Leberzelltod führt und einen Kreislauf aus Zelltod, Fibrogenese und weiterer Zunahme der PH begünstigt. Wenn diese Annahme stimmt, müssten die Zelltodmarker M30 und M65 bei Patienten mit portalhypertensiver Dekompensation höher sein, als bei Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose. Zusätzlich müsste die Korrektur der PH mittels TIPS eine Senkung der Zelltodmarker M30 und M65 erzielen. Daher ist im ersten Teil der Arbeit untersucht worden, ob Unterschiede in der Konzentration der serologischen

Zelltodmarker M30 und M65 zwischen Patienten mit PH und Patienten mit kompensierter Leberzirrhose bestehen.

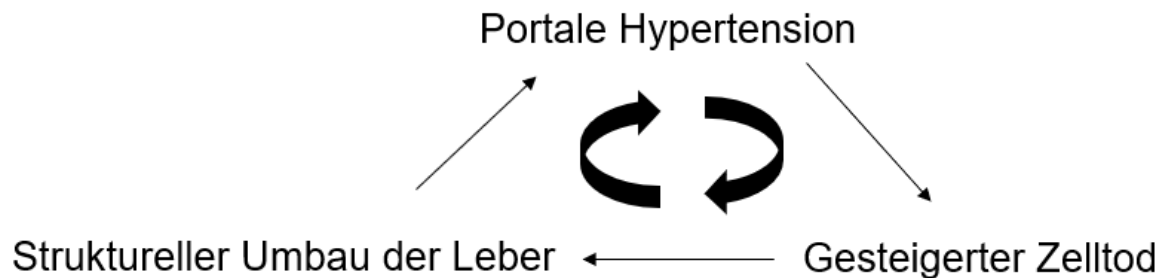


Abbildung 20: Kreislauf aus PH, Zelltod und Fibrose

Zunächst zeigen die Ergebnisse einen signifikanten Unterschied der Plasmakonzentrationen von M30 und M65 zwischen der TIPS-Kohorte zum Zeitpunkt vor dem Eingriff und der Kontrollkohorte (siehe Absatz 4.2). Dies lässt einen Zusammenhang zwischen der Menge der Apoptose sowie Nekrose und der Schwere der Leberzirrhose beziehungsweise dem Vorhandensein einer PH vermuten. Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose ohne klinische Komplikationen zeigen eine signifikant geringere Plasmakonzentration von M30 und M65 im Gegensatz zu Patienten mit einer CSPH. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Macdonald et al. und Stoffers et al. (Macdonald et al. 2018, Stoffers et al. 2022), wobei Stoffers et al. eine Assoziation von CK-18 und Caspase gespaltenem CK-18 mit der Entwicklung einer dekompenzierten Leberzirrhose bei Patienten mit chronischen Lebererkrankungen darstellen konnten. Weiterhin konnten Stoffers et al. einen signifikanten Unterschied der Plasmakonzentrationen von M30 als auch M65 zwischen Patienten mit kompensierter und dekompenzierter Leberzirrhose zeigen, was auch anhand der vorliegenden Studienkohorte bestätigt werden kann. So lässt sich schließen, dass die PH zu vermehrtem (hepatischen) Zelltod bei Patienten mit hydropisch dekompenzierter Leberzirrhose führt.

Nach dem Nachweis eines signifikanten Unterschiedes der Plasmakonzentrationen von M30 und M65 zwischen Patienten mit kompensierter und dekompenzierter Leberzirrhose, liegt das Augenmerk im nächsten Schritt auf den Plasmakonzentrationen von M65 und M30 in den einzelnen Kompartimenten: Lebervene, Pfortader und peripheres venöses Blut. Hierbei stellt sich die Frage, ob

es einen Konzentrationsunterschied zwischen den Kompartimenten gibt, welcher auf einen möglichen Ursprung von M30 und M65 schließen lässt. Da die PH bei dem bereits beschriebenen Circulus vitiosus den hepatischen Zelltod bedingt, besteht die Hypothese, dass M30 und M65 in der Lebervene eine deutlich höhere Konzentration im Gegensatz zur Pfortader und dem peripheren venösen Blut aufweisen.

In dieser Studie zeigt sich, dass im Blutsystem vor der Leber (Pfortader) höhere Plasmaspiegel von M65 als im nachgeschalteten Segment (Lebervene) vorliegen, jedoch ohne signifikanten Unterschied (siehe Kapitel 4.3). Im Gegensatz dazu wurden höhere Plasmaspiegel von M30 in der Lebervene als in der Pfortader gemessen, nicht-signifikant. Bei der Betrachtung von allen drei Kompartimenten wird deutlich, dass die Plasmakonzentration von M30 und M65 in den zentralen Kompartimenten (Lebervene und Pfortader) höher ist, als im peripheren Blut. Dies lässt erahnen, dass bereits vor der Leber eine gewisse Menge an Zelltod stattfindet und zusätzlich intrahepatisch insbesondere M30 freigesetzt wird. Dies bestätigt dennoch nicht die Annahme, dass der überwiegende Anteil des Zelltods intrahepatisch stattfindet, da ein Konzentrationsunterschied von M30 zwischen der Lebervene und der Pfortader minimal und nicht-signifikant nachgewiesen wurde, wobei M65 bereits prähepatisch in der Pfortader eine erhöhte Konzentration aufweist. Dies lässt nur vermuten, dass intrahepatisch bei Patienten mit CSPH eine vermehrte Apoptose vorliegt. Es ist zu beachten, dass die PH eine systemische Erkrankung ist, sodass neben der Leber auch andere Organe wie beispielsweise die Milz betroffen sein können. Weiterhin wird CK-18 nicht nur im Rahmen der PH nachgewiesen, sondern wird in den unterschiedlichsten Organen exprimiert und kann als Tumormarker bei verschiedenen Primärtumoren nachgewiesen werden (Strnad et al. 2012). Hier wäre es sinnvoll, einen leberspezifischen Zelltod-Parameter zu evaluieren, um die biochemischen Abläufe der PH näher zu charakterisieren und einfach bestimmbare Marker mit deutlicher Aussagekraft zu evaluieren.

Somit ist eine Limitation dieser Arbeit, dass M30 und M65 nicht leberspezifisch sind und daher nicht uneingeschränkt als Leberzelltodmarker anwendbar sind. Dennoch ist zu beachten, dass es bei einer CSPH häufig zu einer Entwicklung von

Umgehungskreisläufen kommt und eine Durchmischung zwischen den einzelnen Kompartimenten führt. Zudem ist fraglich, ob eine Verdünnung oder ein zeitlicher Abbau von CK-18 und CK-18-Fragmenten zu dem Konzentrationsunterschied zwischen den zentralen Kompartimenten und dem peripheren Blut führt.

Nachdem gezeigt werden konnte, dass die Konzentration von M30 und M65 in Patienten mit CSPH erhöht ist, lag im nächsten Schritt der Arbeit das Augenmerk auf dem Einfluss der TIPS-Anlage auf die M30- und M65-Plasmakonzentration. Hierbei wurde die These aufgestellt, dass eine Korrektur der PH mittels TIPS-Anlage zu einer Reduktion der Zelltodmarker-Konzentration führt. Bei der Betrachtung der einzelnen Zeitpunkte wird deutlich, dass direkt nach dem Eingriff (short FU) die Menge an Apoptose und Nekrose deutlich ansteigt (siehe Abbildung 8 und Abbildung 9). Dieser transiente Anstieg der Zelltodmarker nach TIPS-Implantation ist zum einen durch die mechanische Schädigung der Leber im Rahmen der Punktion erklärbar. Zum anderen durch eine Störung der Leberperfusion bedingt, bis die hepatic arterial buffer response (HABR) greift. Durch die Anlage des TIPS kommt es zu einer Reduktion der Perfusion der Leber über die Pfortader. Im Rahmen des HABR, welches bei Patienten mit fortgeschrittener Leberzirrhose eingeschränkt ist, erfolgt eine vermehrte Perfusion über die Leberarterien (Gulberg et al. 2002).

Obwohl die Anlage des TIPS zu einer Schädigung des Lebergewebes und somit einem kurzzeitigen deutlichen Anstieg der serologischen Zelltodmarker führt, konnte langfristig ein positiver Effekt der TIPS-Implantation hinsichtlich der Reduktion der M30- und M65-Plasmakonzentration nachgewiesen werden. Über den Beobachtungszeitraum sinkt die Konzentration der Zelltodmarker unterhalb des Niveaus des Ausgangswertes vor der TIPS-Anlage. Dies bestätigt die Annahme, dass zum einen ein erhöhter Pfortaderdruck mit erhöhten Konzentrationen von M30 und M65 im Plasma assoziiert ist und eine Drucksenkung durch die TIPS-Anlage mit einer Verbesserung der PH und einer Abnahme der Zelltodmarker-Konzentrationen assoziiert ist. Dies wird umso deutlicher, bei der Betrachtung der einzelnen Messzeitpunkte im Vergleich zu der Kontrollkohorte. Während die Patienten vor dem Eingriff signifikant höhere Werte als die Kontrollkohorte aufweisen, ist ein signifikanter Unterschied zum Zeitpunkt des late FU nicht mehr

messbar (siehe Kapitel 4.4 und 4.5). Dies unterstreicht die Annahme, dass die TIPS-Anlage neben der Reduktion der Zelltodmarker-Konzentration zu einer Verbesserung der Leberzirrhose führt. In dieser Studie führt die TIPS-Anlage zu einer Reduktion von M30 auf das Niveau von Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose. Die Konzentration von M65 sinkt zwar auf ein nicht-signifikantes Niveau zu der Kontrollkohorte, jedoch liegt der Median um circa 150 U/l über dem der Kontrollkohorte.

Aus diesem Grund lässt sich schließen, dass die PH mit den Zelltodmarker M30 und M65 assoziiert ist und so auch eine Assoziation mit dem hepatischen Zelltod besteht. Sinkt der Pfortaderdruck nach der TIPS-Anlage, sinkt auch die Plasmakonzentration der Zelltodmarker. Führt man sich nun den zu Anfang des Kapitels beschriebenen Kreislauf aus PH, Zelltod und strukturellem Umbau der Leber vor (siehe Abbildung 20), bestätigt sich die Hypothese, dass ein Zusammenhang zwischen diesen drei Komponenten besteht und eine Reduktion der PH durch die TIPS-Anlage einen Einfluss auf den Zelltod sowie der klinischen Asziteskontrolle hat (Piecha et al. 2024). Die PH zeichnet sich als treibende Kraft der Leberzellschädigung bei Patienten mit hydropisch dekompenzierter Leberzirrhose ab. Patienten mit CSPH weisen einen vermehrten Zelltod auf, welcher sich in erhöhten Konzentrationen von M30 und M65 widerspiegelt. Die Reduktion der PH durch die TIPS-Anlage führt zur Reduktion des Zelltods, abgebildet anhand sinkender Konzentrationen von M30 und M65, sowie klinischer Asziteskontrolle. Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass frühzeitig nach asymptomatischen Patienten mit PH gescreent werden sollte, um einen fortgeschrittenen zellulären und funktionellen Leberschaden zu verhindern und eine frühzeitige Therapie einzuleiten. Die klinische Umwandlung der Leberzirrhose von kompensiert zu dekompenziert ist mit einer deutlich reduzierten Lebenserwartung assoziiert. Ein frühzeitiges Erkennen und Therapie der PH, welche klinisch noch nicht in Erscheinung tritt, verhindert die Entwicklung einer hydropischen Dekompensation und führt zu einem verbesserten Outcome der Patienten. Dies zeigt auch die PREDESCI Studie. Eine frühzeitige Erkennung und langfristige Therapie der PH führt zu einer deutlichen Senkung des Dekompensationsrisikos bei Patienten mit CSPH und kompensierter Leberzirrhose (Villanueva et al. 2022).

Hierbei ist die Entwicklung von nicht-invasiven Screening-Methoden von besonderer Relevanz.

Dennoch wurde ein Teilaspekt des Circulus vitiosus in dieser Studie nicht untersucht: Das Ausmaß der strukturellen Veränderungen der Leber. Hierbei wäre es sinnvoll, zum einen die bisher gesammelten Daten mit histologischen Daten zu vergleichen. Leberbiopsien, die für eine solche Analyse - dem Vergleich der Zelltodmarker mit der Leberbeschaffenheit - nötig wären, werden in diesem Stadium nicht routinemäßig entnommen und liegen für eine histologische Untersuchung somit nicht vor. Da dies eine deutliche Invasivität aufzeigt, ist es fraglich inwiefern dies als Studie umsetzbar ist. Dennoch könnte mit diesem Model evaluiert werden, inwiefern die Reduktion der PH durch die TIPS-Anlage einen Einfluss auf die Mikroanatomie der Leber hat. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass der zirrhotische Umbau der Leber insbesondere bei Dekompensation in der Regel nicht reversibel ist.

5.2. Assoziation der Zelltodmarker M30 und M65 mit dem TIPS-Ansprechen

Der TIPS ist ein nicht-invasives Verfahren, welches sich in den letzten 40 Jahren durch technischen Fortschritt und Optimierung der Patientenselektion zu einer guten Therapiemöglichkeit der PH entwickelt hat. Dennoch liegt die Erfolgsrate, gekennzeichnet durch eine Reduktion des HVPG und dem Fehlen von Komplikationen sowie die Überlebenswahrscheinlichkeit nicht bei 100% (Kirchhoff et al. 2002). Dies lässt sich auch in dieser Arbeit darstellen. Bei der Untersuchung des TIPS-Ansprechens wird deutlich, dass von 44 eingeschlossenen Patienten 15 Patienten und somit circa ein Drittel als Non-Responder aufgrund eines frühzeitigen Versterbens oder eines therapierefraktären Aszites nach TIPS-Anlage definiert wurden (siehe Absatz 4.6).

Inwiefern M30 und M65 bei Patienten mit fehlendem TIPS-Ansprechen einen schwereren Leberschaden widerspiegeln und als prognostische Marker für das TIPS-Ansprechen dienen, soll im Folgenden untersucht werden. Zu Beginn der Arbeit wurde die Hypothese aufgestellt, dass Patienten mit einem schwereren Leberschaden ein schlechteres TIPS-Ansprechen aufweisen. Die Höhe der Serumzelltodmarker ist mit dem klinischen Ansprechen auf die TIPS-Implantation

assoziiert. Zhang et al. konnten bereits darstellen, dass eine erhöhte Konzentration von CK-18 mit einem schlechteren Outcome, charakterisiert anhand eines letalen Verlaufs oder der Notwendigkeit einer Lebertransplantation, assoziiert ist (Zhang et al. 2024).

Sowohl für M30 als auch M65 zeigen sich bei Patienten, welche als Non-Responder definiert wurden, höhere Konzentrationen in allen drei Kompartimenten mit signifikantem Unterschied für M65 in der Lebervene. Dennoch lassen sich für die anderen Kompartimente keine signifikanten Unterschiede darstellen. Statistisch gesehen zeigt sich somit eher eine geringe Aussagekraft. Dennoch stellt sich in dieser Studie eine klinische Relevanz dar, da Patienten mit absoluten niedrigeren Werten von M30 und M65 keinen persistierenden Aszites entwickeln beziehungsweise ein längeres Überleben im Vergleich zu den Non-Respondern nach TIPS-Anlage aufweisen. Die Patienten, welche als Non-Responder eingestuft wurden, weisen in allen drei Kompartimenten eine höhere Konzentration von M30 und M65 auf. Dies unterstreicht die Hypothese, dass Patienten mit einem schwereren Leberschaden, charakterisiert anhand erhöhter Zelltodmarker-Konzentrationen, ein schlechteres TIPS-Ansprechen aufweisen.

Es ist zu beachten, dass durch erhöhte Konzentrationen von M30 und M65 allein keine Aussage hinsichtlich des TIPS-Ansprechens getroffen werden kann. Die in Kapitel 4.6. beschriebenen Ergebnisse weisen eine deutliche Varianz der Standardabweichung innerhalb der Kohorten auf. Inwiefern Patienten von einem TIPS profitieren ist zudem abhängig von vielen weiteren Faktoren, beispielsweise den Patientencharakteristika, Laborparametern, Schwere der Leberzirrhose, Begleiterkrankungen und Schweregrad der PH.

Hinsichtlich der Hypothese, dass die Konzentration von M30 als auch M65 bei den Respondern nach TIPS-Anlage signifikant sinkt im Gegensatz zu den Non-Respondern, imponierte bei der Betrachtung der Responder für M65, jedoch nicht für M30, die signifikante Senkung der Konzentration von Prä-TIPS zum late FU, vergleichbar mit den Ergebnissen von Piecha et al. (Piecha et al. 2024). Zusätzlich zeigte sich bei der Analyse der Non-Responder eine konstante Konzentration zu den Zeitpunkten Prä TIPS, short und early FU. Dies lässt vermuten, dass bei Patienten mit fehlendem TIPS-Ansprechen M30 und M65 nicht, wenn überhaupt

geringfügig, durch die TIPS-Anlage beeinflusst werden. Bei Patienten mit erfolgreichem TIPS-Ansprechen sinkt M65 signifikant durch die TIPS-Anlage ab. Daraus lässt sich schließen, dass eine fehlende Änderung von M30 und M65 nach TIPS-Anlage mit einem schlechteren Outcome assoziiert ist. Dennoch ist zu beachten, dass Messungen zum Zeitpunkt des late FU für die Non-Responder aufgrund der Definition der Kohorte nicht möglich waren. Weiterhin ist die statistische Aussagekraft bei einer Anzahl von 8 Patienten relativ gering.

Zusätzlich sollte untersucht werden, ob M30 und M65, vergleichbar mit den Transaminasen, den Leberschaden beziehungsweise auch den klinischen Zustand abbilden können oder miteinander korrelieren. Um ein ganzheitliches Bild darzustellen wurden die Plasmakonzentrationen der Zelltodmarker mit den klinischen Scores, Laborparametern und den vaskulären Druckparametern korreliert. Als klinisch relevante Korrelation wurde ein Korrelationskoeffizient von $\rho > 0,5$ angesehen. Dies ließ sich nur bei wenigen Parametern nachweisen. Insbesondere bei der Einteilung zwischen Respondern und Non-Respondern wird deutlich, dass sich M30 als auch M65 unterschiedlich verhalten.

Die negative Korrelation von M30 und Albumin sowie die positive Korrelation von M30 und Kreatinin spiegeln das typische Verhalten der Laborparameter im Rahmen einer schweren Leberschädigung wider. Die Korrelationsanalyse zeigt an, je höher die Apoptoserate und der Leberschaden bei Patienten mit einer PH, desto weniger Albumin wird aufgrund der verminderten Leberfunktion gebildet.

Auch die Konzentration von M65 und Kreatinin korrelieren signifikant. Hier ist zum einen zu betrachten, dass CK-18 nicht nur in der Leber, sondern auch in anderen Organen Teil des Zytoskeletts ist. Zum anderen führt die mit der PH einhergehende effektive Hypovolämie und Hypotension zu einer vermehrten Aktivierung des RAAS sowie vasoaktiver Substanzen. Diese führen zu einer Zunahme der renalen Vasokonstriktion, die über einen längeren Zeitraum zu einer Belastung der Niere mit Kreatinin-Erhöhung und Entwicklung eines HRS führen kann (Gunter und Schrenck 2000).

Die Plasmakonzentration von M65 innerhalb der TIPS-Kohorte korreliert zusätzlich signifikant mit dem MELD-Na Score sowie dem CLIF-C AD Score und den

Laborparametern γ GT, GOT und GPT. Sowohl die Scores als auch die drei Laborparameter spiegeln die Schwere von Lebererkrankungen und der Leberzirrhose wider. Dies bestätigen die Ergebnisse von Mueller et al. (Mueller et al. 2017).

Nach der Unterteilung in Responder und Non-Responder zeigen sich weitere Korrelationsverhältnisse (siehe Kapitel 4.7.2). Bei den Non-Respondern korreliert M65 signifikant mit dem Kreatinin ($p = 0,577$). So lässt sich erneut bestätigen, dass ein erhöhtes Kreatinin vor dem Eingriff mit einem erhöhten Zelltod im Rahmen einer PH assoziiert ist und die Wahrscheinlichkeit für das TIPS-Ansprechen bei diesen Patienten geringer ist. Dies kann durch Ergebnisse von Membreno et al. aus dem Jahre 2005 unterstrichen werden. Hierbei war ein erhöhtes Kreatinin über 2 mg/dl vor der TIPS-Anlage mit einer schlechteren Überlebenswahrscheinlichkeit assoziiert (Membreno et al. 2005).

Dem ist entgegenzusetzen, dass laut der aktuellen S3 Leitlinie bei Patienten mit einem HRS, die definitionsgemäß ein erhöhtes Kreatinin aufweisen, eine TIPS-Anlage in Erwägung gezogen werden sollte (Gerbes et al. 2011). Des Weiteren sollte nicht außer Acht gelassen werden, dass Kreatinin ein instabiler Laborparameter ist, der durch verschiedenste Faktoren beeinflusst wird, beispielsweise erniedrigt bei Sarkopenie. Zudem werden Kreatinin-Erhöhrungen aufgrund nicht hepatologisch bedingter Ursachen in diese Betrachtung nicht miteinbezogen.

Eine weitere signifikante Korrelation zeigt sich zwischen M30 und der Leukozytenzahl bei den Non-Respondern. Serologisch ist eine Leukozytose häufig ein Hinweis für eine Infektion des Körpers, wobei die systemische Inflammation ein wichtiger Faktor bei der Dekompensation von Lebererkrankungen spielt (Costa et al. 2021). Die dargestellte Korrelation in dieser Studienpopulation stellt daher einen weiteren Beweis für die These dar, dass eine systemische Entzündung maßgeblich für den Progress und für das Outcome des Patienten mit fortgeschrittener Leberzirrhose von entscheidender Bedeutung ist (Bernardi et al. 2015). Doch nicht nur bei Patienten mit Leberzirrhosen verschiedenster Ätiologien, sondern auch bei Patienten nach TIPS-Anlage stellt die Leukozytenzahl im Blut einen wichtigen prognostischen Marker dar (Bucsics und Reiberger 2018). Die durch Macdonald et

al. beschriebene signifikante Assoziation von M30 und M65 mit der Leukozytenzahl, konnte in dieser Studie immerhin für M30 veranschaulicht werden (Macdonald et al. 2018).

Aus diesem Grund lässt sich aus den Ergebnissen schließen, dass Laborparameter, wie beispielsweise ein erhöhtes Kreatinin oder ein erniedrigtes Albumin, die auf Funktionseinschränkungen der Leber und Niere hinweisen, mit einem geringeren Erfolg des Eingriffes als auch mit erhöhten Zelltodmarkern im peripheren Plasma assoziiert sind, wenn auch nur in geringem Ausmaß. Dies unterstreicht die Ergebnisse von Piecha et al., dass ein niedriges Kreatinin vor der TIPS-Anlage mit einer besseren Asziteskontrolle assoziiert ist (Piecha et al. 2019). Die Hypothese, dass Patienten mit einem schwereren Leberschaden ein schlechteres TIPS-Ansprechen aufweisen, lässt sich mit der Aussage von Kirchhoff et al., dass „[d]as langfristige Überleben nach TIPS-Anlage [...] durch die initiale Leberfunktion beeinflusst [wird]“ (Kirchhoff et al. 2002), unterstreichen.

5.2.1. Prädiktionsmodell M30/M65

Die Zelltodmarker M30 und M65 wurden in verschiedensten Studien als Biomarker für unterschiedliche Lebererkrankungen untersucht (Luedde et al. 2014). Bisherige Ergebnisse dieser Doktorarbeit zeigen eine Assoziation zwischen gesteigertem Zelltod, durch M30 und M65 quantifiziert, und PH sowie eine signifikante Senkung vom M65 zum Zeitpunkt des late FU durch die TIPS-Anlage. Dennoch ist unklar, inwieweit die Menge an M65 und M30 mit dem TIPS-Ansprechen zusammenhängt und, ob die Plasmakonzentration von M30 und M65 als prognostischen Marker für das Outcome von Patienten mit TIPS-Anlage dienen kann.

Das Prädiktionsmodell erfolgt über eine logistische Regression. Da das Modell nur 20 % der Non-Responder als diese erkennt, wird deutlich, dass die vorhergesagte Zahl an Non-Respondern durch die Werte von M30 und M65 nicht mit dem der beobachteten Zahlen übereinstimmen. Dadurch werden fälschlicherweise 12 von 15 Non-Responder als Responder eingestuft. Zusätzlich wird durch den Regressionskoeffizienten B und der Odds Ratio deutlich, dass bei einem Anstieg von M30 um eins die Wahrscheinlichkeit um 0,3 % sinkt, dass der Patient ein Non-Responder sein wird. Für M65 steigt die Wahrscheinlichkeit hierbei um 0,4 %. Zum

einen sind dies sehr geringe Prozentzahlen. Auch durch die Berechnungen anhand logarithmierter Werte konnte keine signifikante Aussage getroffen werden.

Weiterhin zeigt die Berechnung des Nagelkerke R-Quadrats, dass das Modell anhand der vorliegenden Daten für die Vorhersage des TIPS-Ansprechens nicht geeignet ist. Das Nagelkerke R-Quadrat kann zwischen eins und null variieren. Desto näher der Wert an eins liegt, desto besser ist das Modell beziehungsweise die Regression. Für M30 und M65 lag dieses bei 0,065, was deutlich zeigt, dass das hypothetische Modell keine gute Aussagekraft aufweist (siehe Kapitel 4.8).

Da die Konzentration von M30 und M65 in der Lebervene am höchsten ist, erfolgt zusätzlich die Untersuchung eines Prädiktionsmodell anhand dieser invasiv gewonnenen Werte. Doch auch hier konnte kein verlässliches Modell evaluiert werden. Des Weiteren ist die Entwicklung eines Prädiktionsmodells anhand invasiv gewonnener Werte im klinischen Alltag nicht praktikabel.

Zusammenfassend wird deutlich, dass bei dieser Studienpopulation weder die Messung von M30 und M65 im Plasma vor dem TIPS-Eingriff noch in der Lebervene eine signifikante Aussage darüber treffen kann, ob die TIPS-Anlage erfolgreich sein wird oder nicht.

Auch Piecha et al. konnten in zu dieser Doktorarbeit zugehörigem Paper keine statistisch klare Aussage über die Entwicklung von M30 und M65 als prognostische Marker formulieren. Dies begründet sich zum einen durch die Homogenität der Patienten innerhalb der TIPS-Kohorte. Zum anderen aufgrund der Patientenselektion anhand gängiger Kriterien, welche mit einem verbesserten TIPS-Ansprechen assoziiert sind. Hierbei ist jedoch hervorzuheben, dass für das Paper eine größere Studienpopulation und ein um ein Jahr längerer Beobachtungszeitraum als für diese Doktorarbeit verwendet wurde, sodass sich vereinzelt auch Unterschiede in den Ergebnissen darstellen (Piecha et al. 2024).

6. Fazit und Ausblick

Diese Dissertation dient zur Evaluierung von nicht-invasiven Markern als Screening-Methode für Patienten mit CSPH und TIPS-Anlage sowie der Betrachtung des Einflusses der PH auf den hepatischen Zelltod. Es erfolgte die Untersuchung der Zelltodmarker M30 und M65 im Plasma bei Patienten mit CSPH und hydrop dekompenzierter Leberzirrhose sowie TIPS-Anlage zur Klärung folgender Hypothesen: (1) Es besteht ein Circulus vitiosus zwischen der PH, dem hepatischen Zelluntergang und dem Fortschreiten der Leberfibrose, (2) eine Korrektur der PH mithilfe des TIPS führt zu einer Abnahme der Zelltodmarker-Konzentration, (3) Patienten mit einem schwereren Leberschaden weisen ein schlechteres TIPS-Ansprechen auf und (4) die Konzentration der Zelltodmarker M30 und M65 ist mit dem TIPS-Ansprechen assoziiert.

Zunächst werden die Vor- und Nachteile dieser Dissertation betrachtet. Ein wichtiger limitierender Faktor der Studie ist die Anzahl der rekrutierten Patienten innerhalb der TIPS-Kohorte. Dies stellt insbesondere bei der Entwicklung des Prädiktionsmodells ein Problem dar. Zusätzlich besteht eine geringe Patientenanzahl zum Zeitpunkt des late FU, insbesondere bei den Non-Respondern. Dies ist zum einen bedingt durch die selbst-formulierte Definition der Non-Responder: Der Exitus letalis. Zum anderen ist dies durch das Nicht-Erscheinen der Patienten, aufgrund fehlender Compliance oder logistischen Problemen, begründet. Bei Patienten, die aus örtlichen Gründen nicht zum late FU erscheinen konnten, erfolgte das FU telefonisch ohne Blutentnahme.

Zusätzlich sollte bei der Analyse der M30- und M65-Konzentrationen der Ursprung der Marker nicht außer Acht gelassen werden. Sowohl M30 als auch M65 sind nicht leberspezifisch und können durch andere Organe freigesetzt werden. Dem ist entgegenzusetzen, dass McDonald et al zeigen konnten., dass M30 und M65 bei einem Multiorganversagen überwiegend hepatischen Ursprungs sind (Macdonald et al. 2018).

Ein weiterer Kritikpunkt ist, dass histologische Verlaufsbefunde in dieser Studie nicht erhoben wurden beziehungsweise nicht zur Verfügung standen. Um die Hypothese des Circulus vitiosus aus PH, hepatischem Zelluntergang und

Fortschreiten der Leberfibrose genauer zu untersuchen, wäre der Abgleich von M30 und M65 mit histologischen Schnitten sehr interessant. Dies könnte die Frage, ob die Zelltodmarker im Rahmen der PH spezifisch mit dem Leberzelltod zusammenhängen, besser veranschaulichen und untersuchen.

Ein Vorteil der Arbeit ist das prospektive Studiendesign. Die wissenschaftliche Aussagekraft von prospektiven Kohortenstudien mit Kontrollkohorte ist relativ hoch, da bereits vor dem Start der Studie die Ziel- und Einflussgrößen sowie Ein- und Ausschlusskriterien definiert wurden. Aufgrund der homogenen Patientenkohorte ist der Einfluss von Störgrößen (Confounders) vermindert. Weiterhin bildet die Studienkohorte ein weites Spektrum der Ursachen der Leberzirrhose ab. Viele Studien beziehen sich meist nur auf eine Ätiologie, was zu einer einseitigen Betrachtung der Ergebnisse führt. Dennoch ist zu kritisieren, dass die Patientenanzahl der Kontrollkohorte in dieser Studie gering ist und bei diesen Patienten keine Messungen des Pfortaderdrucks stattgefunden haben. Dadurch sind Patienten mit einer klinisch kompensierten Leberzirrhose, die dennoch eine PH (coverte PH) aufweisen können, klinisch der Kontrollkohorte zugewiesen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Zelltodmarker M30 und M65 bei Patienten mit portal-hypertensiv dekompenzierter Leberzirrhose im peripheren Plasma deutlich erhöht sind, insbesondere beim Vergleich zu Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose. Blutentnahmen bei der TIPS-Anlage ermöglichten eine zusätzliche Untersuchung der Zelltodmarker in der Lebervene und in der Pfortader. Diese ergaben zum Teil signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Kompartimenten. Die TIPS-Anlage und somit die Behandlung der PH führte zu einer Reduktion des Zelltods – gemessen an sinkenden M30- und M65-Konzentration innerhalb des Beobachtungszeitraumes. Dies bestätigt die Hypothese, dass die PH zu einem vermehrten hepatischen Zelluntergang führt, welcher das Fortschreiten der Leberfibrose verstärkt, was wiederum die PH aggraviert. Eine Senkung der PH führt zu einer Abnahme des hepatischen Zelltods. Um diesen Zusammenhang zu verdeutlichen und zu bestätigen, sollte in weiteren Studien anhand histologischer Untersuchungen der hepatische Zelluntergang und die Leberfibrose näher betrachtet werden.

Bei der Betrachtung der Korrelationen wurde untersucht, inwiefern M30 und M65 den klinischen Zustand anhand von Laborparametern abbilden können. In dieser Studie zeigten sich Korrelationen von M30 und M65 mit Albumin und Kreatinin, was die Korrelation zwischen den Zelltodmarkern und den Auswirkungen der PH abbildet. Zusätzlich imponierte bei den Non-Respondern eine Korrelation von M30 mit der Leukozytenzahl, was die Relevanz der Menge des Zelltods und der Entzündungsreaktion für die Prognose des Überlebens unterstreicht.

In unserer Studienpopulation war die Höhe der M30- und M65-Konzentration im Blut nicht prädiktiv für das TIPS-Ansprechen. Dennoch zeigt der Vergleich von M30 und M65 zwischen Respondern und Non-Respondern, dass Patienten mit Asziteskontrolle und erfolgreichem klinischen Verlauf nach TIPS-Anlage geringere Konzentrationen der Zelltodmarker in allen drei Kompartimenten – Lebervene, Pfortader und peripher-venöses Blut- aufweisen (Piecha et al. 2024). Zusätzlich imponierte die signifikante Senkung der M65-Konzentration über den Beobachtungszeitraum bei den Respondern.

Die bisher gesammelten Ergebnisse zeigen zwar Limitierungen aber auch Entwicklungsmöglichkeiten auf. Eine spannende Betrachtung könnte die Messung des HVPG bei Patienten mit kompensierter Leberzirrhose darstellen, sodass HVPG und M30- sowie M65-Konzentration von Patienten mit CSPH und kompensierter Leberzirrhose näher betrachtet werden. Dies könnte den Kritikpunkt der Studie, dass bei den Patienten der Kontrollkohorte keine Messung des Pfortaderdrucks stattgefunden hat, näher untersuchen. Es könnte betrachtet werden, ob M30 und M65 geeignete Blutwerte sind, um Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose und einer klinisch unsichtbaren aber prognostisch relevanten CSPH zu diagnostizieren und frühzeitig die Indikation für die Carvedilol-Gabe nach den neuen Erkenntnissen von Villanueva et al. zu stellen. Denn eine frühzeitige Erkennung einer CSPH vor Dekompensation durch Screening-Maßnahme ist von relevanter prognostischer Bedeutung für das Outcome der Patienten (Villanueva et al. 2022). Des Weiteren könnte die Untersuchung von weiteren biochemischen Parametern wie anderen Zytokeratinen oder immunologischen Markern aufschlussreiche Ergebnisse liefern. Sollte die CK-Messung mit ausreichender Präzision die PH abbilden, könnte die Indikationsstellung für eine primärprophylaktische Therapie der

PH anhand eines Bluttests erfolgen, ohne dass eine invasive Druckmessung nötig wäre.

7. Zusammenfassung

Die Portale Hypertension (PH) als Folge einer Leberzirrhose ist aufgrund verschiedenster Komplikationen durch eine schlechte Prognose charakterisiert. Ein minimal-invasives Verfahren zur Reduktion des Pfortaderdruckes ist der Transjuguläre intrahepatische portosystemische Shunt (TIPS). Die Zelltodmarker M30 und M65 sind für verschiedenste Lebererkrankungen von prognostischer Bedeutung. Inwiefern M30 und M65 eine Rolle bei Patienten mit klinisch-signifikanter PH (CSPH) und TIPS-Anlage spielt und ob die Zelltodmarker als Prognosemarker dienen können, wurde in dieser Arbeit untersucht.

Insgesamt 44 Patienten mit CSPH und geplanter TIPS-Anlage in der TIPS-Kohorte und 24 Patienten mit kompensierter Leberzirrhose als Kontrollkohorte wurden über einen Zeitraum von 16 Monaten in dieser prospektiv-translationalen Kohortenstudie untersucht. Patienten mit einer CSPH und dekompenzierten Leberzirrhose weisen einen deutlich höhere M30- und M65-Konzentration als Patienten mit kompensierter Leberzirrhose auf. Im Vergleich zu den Werten im peripher-venösen Blut liegen in den Kompartimenten Lebervene und Pfortader höhere Konzentrationen von M30 und M65 vor. Initial nach der TIPS-Anlage steigen im peripher-venösen Blut die Konzentrationen der Zelltodmarker an, am ehesten bedingt durch das Prozedere der TIPS-Anlage. Während des Beobachtungszeitraums sinken die Plasmakonzentration von M30 und M65 im zeitlichen Verlauf bis auf das Ausgangsniveau und nahezu auf das Niveau von Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose. Dies lässt folgern, dass die Zelltodmarker mit dem Vorliegen einer PH assoziiert sind. Es besteht ein Circulus vitiosus zwischen der PH und dem hepatischen Zelltod bei Patienten mit hydrop dekompenzierter Leberzirrhose. Die Therapie der PH mittels TIPS führt zur Reduktion des Leberzelluntergangs. Die Erfolgsrate des TIPS innerhalb dieser Studienkohorte liegt bei 70 %. Hinsichtlich der Konzentration von M30 und M65 unterscheiden sich diese zwischen den Respondern und Non-Respondern nicht signifikant, ausgenommen vom Kompartiment Lebervene. Die Etablierung von M30 als auch M65 als Prognosemarker für das TIPS-Ansprechen, ist mit dieser Arbeit nicht gelungen. Hierbei sind weitere Untersuchungen anhand einer größeren Studienpopulation notwendig.

Abstract

Portal Hypertension (PH) as a result of liver cirrhosis is characterized by a poor prognosis due to various complications. The implantation of a transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS) is a minimally invasive procedure for reducing portal pressure. The epithelial cell death markers M30 and M65 are of prognostic significance for various liver diseases. The role of M30 and M65 in patients with clinically significant PH (CSPH) and TIPS as well as the prognostic significance of M30 and M65 in patients receiving a TIPS because of hydropic decompensation was investigated in this study.

A total of 44 patients with CSPH and planned TIPS in the TIPS cohort and 24 patients with compensated liver cirrhosis as a control cohort were examined over a period of 16 months in this prospective translational cohort study. M30 and M65 show a significantly higher level in patients with CSPH and decompensated liver cirrhosis in contrast to patients with compensated liver cirrhosis. Compared to the concentration in the cubital vein, higher concentrations of M30 and M65 are present in the hepatic vein and portal vein compartments. Initially after the TIPS procedure, the concentrations of cell death markers in the cubital vein increase, most likely due to the TIPS procedure itself. During the observation period, the plasma concentrations of M30 and M65 decrease over time to the initial level and almost to the level of patients with compensated liver cirrhosis. This leads to the conclusion that the cell death markers are associated with the presence of PH. This leads to a correlation between PH and hepatic cell death in patients with hydropic decompensated cirrhosis. Treatment of PH with TIPS evolves to a reduction in liver cell death.

The success rate of TIPS within this study cohort is 70 %. With regard to the concentration of M30 and M65, there is no significant difference between responders and non-responders, with the exception of the hepatic vein compartment. The establishment of M30 and M65 as prognostic markers for TIPS response was not successful with this study. Further investigations based on a larger study population are necessary.

8. Literaturverzeichnis

- Abby Philips, C. & Sahney, A. (2016) Oesophageal and gastric varices: historical aspects, classification and grading: everything in one place. *Gastroenterol Rep (Oxf)*, 4, 186-195.
- Acevedo, J. G. & Cramp, M. E. (2017) Hepatorenal syndrome: Update on diagnosis and therapy. *World J Hepatol*, 9, 293-299.
- Adebayo, D., Neong, S. F. & Wong, F. (2019) Refractory Ascites in Liver Cirrhosis. *Am J Gastroenterol*, 114, 40-47.
- Altinbas, A., Coban, S., Basar, O. & Yuksel, O. (2015) Utility of M30, an apoptotic serum marker, in liver diseases. *Turk J Med Sci*, 45, 6-10.
- Balducci, G., Sterpetti, A. V. & Ventura, M. (2016) A short history of portal hypertension and of its management. *J Gastroenterol Hepatol*, 31, 541-545.
- Bantel, H., Lugering, A., Heidemann, J., Volkmann, X., Poremba, C., Strassburg, C. P., Manns, M. P. & Schulze-Osthoff, K. (2004) Detection of apoptotic caspase activation in sera from patients with chronic HCV infection is associated with fibrotic liver injury. *Hepatology*, 40, 1078-1087.
- Bechmann, L. P., Jochum, C., Kocabayoglu, P., Sowa, J. P., Kassalik, M., Gieseler, R. K., Saner, F., Paul, A., Trautwein, C., Gerken, G. & Canbay, A. (2010) Cytokeratin 18-based modification of the MELD score improves prediction of spontaneous survival after acute liver injury. *J Hepatol*, 53, 639-647.
- Bernardi, M., Moreau, R., Angeli, P., Schnabl, B. & Arroyo, V. (2015) Mechanisms of decompensation and organ failure in cirrhosis: From peripheral arterial vasodilation to systemic inflammation hypothesis. *J Hepatol*, 63, 1272-1284.
- Berzigotti, A., Albillos, A., Villanueva, C., Genesca, J., Ardevol, A., Augustin, S., Calleja, J. L., Banares, R., Garcia-Pagan, J. C., Mesonero, F., Bosch, J. & Ciberehd Sportdiet Collaborative, G. (2017) Effects of an intensive lifestyle intervention program on portal hypertension in patients with cirrhosis and obesity: The SportDiet study. *Hepatology*, 65, 1293-1305.

- Bhat, M., Tazari, M. & Sebastiani, G. (2017) Performance of transient elastography and serum fibrosis biomarkers for non-invasive evaluation of recurrent fibrosis after liver transplantation: A meta-analysis. *PLoS One*, 12, e0185192.
- Bissonnette, J., Altamirano, J., Devue, C., Roux, O., Payance, A., Lebrech, D., Bedossa, P., Valla, D., Durand, F., Ait-Oufella, H., Sancho-Bru, P., Caballeria, J., Gines, P., Boulanger, C. M., Bataller, R. & Rautou, P. E. (2017) A prospective study of the utility of plasma biomarkers to diagnose alcoholic hepatitis. *Hepatology*, 66, 555-563.
- Bosch, J. & Garcia-Pagan, J. C. (2000) Complications of cirrhosis. I. Portal hypertension. *J Hepatol*, 32, 141-156.
- Bosch, J. & Iwakiri, Y. (2018) The portal hypertension syndrome: etiology, classification, relevance, and animal models. *Hepatol Int*, 12, 1-10.
- Boyer, T. D. (2003) Transjugular intrahepatic portosystemic shunt: current status. *Gastroenterology*, 124, 1700-1710.
- Bucsics, T. & Reiberger, T. (2018) „Early TIPS“ bei Varizenblutungen – Ergebnisse aus der klinischen Routine. *J. Gastroenterol. Hepatol. Erkr.*, 16, 29-35.
- Bureau, C., Garcia-Pagan, J. C., Otal, P., Pomier-Layrargues, G., Chabbert, V., Cortez, C., Perreault, P., Peron, J. M., Abraldes, J. G., Bouchard, L., Bilbao, J. I., Bosch, J., Rousseau, H. & Vinel, J. P. (2004) Improved clinical outcome using polytetrafluoroethylene-coated stents for TIPS: results of a randomized study. *Gastroenterology*, 126, 469-475.
- Bureau, C., Metivier, S., D'amico, M., Peron, J. M., Otal, P., Pagan, J. C., Chabbert, V., Chagneau-Derode, C., Procopet, B., Rousseau, H., Bosch, J. & Vinel, J. P. (2011) Serum bilirubin and platelet count: a simple predictive model for survival in patients with refractory ascites treated by TIPS. *J Hepatol*, 54, 901-907.
- Bureau, C., Thabut, D., Oberti, F., Dharancy, S., Carbonell, N., Bouvier, A., Mathurin, P., Otal, P., Cabarro, P., Peron, J. M. & Vinel, J. P. (2017) Transjugular Intrahepatic Portosystemic Shunts With Covered Stents

- Increase Transplant-Free Survival of Patients With Cirrhosis and Recurrent Ascites. *Gastroenterology*, 152, 157-163.
- Burt, A., Ferrel, L. & Hubscher, S. (2017) *MacSween's Pathology of the Liver*. Elsevier.
- Canbay, A., Feldstein, A., Kronenberger, B., Schulze-Osthoff, K. & Bante, H. (2014) Zytokeratin-18 als Marker zur nichtinvasiven Diagnostik und Prognose akuter und chronischer Lebererkrankungen. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, 52, 290 - 295.
- Casanova, J. & Bataller, R. (2014) Alcoholic hepatitis: Prognosis and treatment. *Gastroenterol Hepatol*, 37, 262-268.
- Castera, L., Forns, X. & Alberti, A. (2008) Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *J Hepatol*, 48, 835-847.
- Chen, Z., Tian, R., She, Z., Cai, J. & Li, H. (2020) Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Free Radic Biol Med*, 152, 116-141.
- Child, C. G. & Turcotte, J. G. (1964) Surgery and portal hypertension. *Major Probl Clin Surg*, 1, 1-85.
- Cichoz-Lach, H. & Michalak, A. (2014) Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. *World J Gastroenterol*, 20, 8082-8091.
- Colombato, L. (2007) The role of transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS) in the management of portal hypertension. *J Clin Gastroenterol*, 41 Suppl 3, S344-351.
- Costa, D., Simbrunner, B., Jachs, M., Hartl, L., Bauer, D., Paternostro, R., Schwabl, P., Scheiner, B., Stattermayer, A. F., Pinter, M., Trauner, M., Mandorfer, M. & Reiberger, T. (2021) Systemic inflammation increases across distinct stages of advanced chronic liver disease and correlates with decompensation and mortality. *J Hepatol*, 74, 819-828.
- De Franchis, R., Bosch, J., Garcia-Tsao, G., Reiberger, T., Ripoll, C. & Baveno, V. I. I. F. (2022) Baveno VII - Renewing consensus in portal hypertension. *J Hepatol*, 76, 959-974.

- Dulai, P. S., Singh, S., Patel, J., Soni, M., Prokop, L. J., Younossi, Z., Sebastiani, G., Ekstedt, M., Hagstrom, H., Nasr, P., Stal, P., Wong, V. W., Kechagias, S., Hultcrantz, R. & Loomba, R. (2017) Increased risk of mortality by fibrosis stage in nonalcoholic fatty liver disease: Systematic review and meta-analysis. *Hepatology*, 65, 1557-1565.
- European Association for the Study of the Liver (2018) EASL Clinical Practice Guidelines for the management of patients with decompensated cirrhosis. *J Hepatol*, 69, 406-460.
- Feldstein, A. E., Alkhouri, N., De Vito, R., Alisi, A., Lopez, R. & Nobili, V. (2013) Serum cytokeratin-18 fragment levels are useful biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis in children. *Am J Gastroenterol*, 108, 1526-1531.
- Friedman, L. & Martin, P. (2017) *Handbook of Liver Disease*.
- Gairing, S. J., Schleicher, E. M., Galle, P. R. & Labenz, C. (2023) Prediction and prevention of the first episode of overt hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *Hepatol Commun*, 7.
- Garcia-Tsao, G. (2001) Current management of the complications of cirrhosis and portal hypertension: variceal hemorrhage, ascites, and spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterology*, 120, 726-748.
- Ge, P. S. & Runyon, B. A. (2016) Treatment of Patients with Cirrhosis. *N Engl J Med*, 375, 767-777.
- Gerbes, A. L., Gulberg, V., Sauerbruch, T., Wiest, R., Appenrodt, B., Bahr, M. J., Dollinger, M. M., Rossle, M. & Schepke, M. (2011) [German S 3-guideline "ascites, spontaneous bacterial peritonitis, hepatorenal syndrome"]. *Z Gastroenterol*, 49, 749-779.
- Grandt, D., Sauerbruch, T., Fleig, W. & Rössle, M. (2004) Therapie der portalen Hypertension: Stellenwert des transjugulären intrahepatischen portosystemischen Shunts. *Deutsches Ärzteblatt*, 101 (7), A416-428.
- Gross, M. (2015) [Liver cirrhosis and the most common complications: diagnosis and treatment]. *MMW Fortschr Med*, 157 Suppl 1, 75-79.

- Guicciardi, M. E. & Gores, G. J. (2005) Apoptosis: a mechanism of acute and chronic liver injury. *Gut*, 54, 1024-1033.
- Guicciardi, M. E. & Gores, G. J. (2010) Apoptosis as a mechanism for liver disease progression. *Semin Liver Dis*, 30, 402-410.
- Guicciardi, M. E., Malhi, H., Mott, J. L. & Gores, G. J. (2013) Apoptosis and necrosis in the liver. *Compr Physiol*, 3, 977-1010.
- Gulberg, V., Haag, K., Rossle, M. & Gerbes, A. L. (2002) Hepatic arterial buffer response in patients with advanced cirrhosis. *Hepatology*, 35, 630-634.
- Gunter, W. & Schrenck, T. V. (2000) Das hepatorenale Syndrom: Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie. *Dt Ärztebl*, 97, A 2858–2862.
- Gupta, K., Bhurwal, A., Law, C., Ventre, S., Minacapelli, C. D., Kabaria, S., Li, Y., Tait, C., Catalano, C. & Rustgi, V. K. (2021) Acute kidney injury and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *World J Gastroenterol*, 27, 3984-4003.
- Harrison, M. F. (2018) The Misunderstood Coagulopathy of Liver Disease: A Review for the Acute Setting. *West J Emerg Med*, 19, 863-871.
- Henriksen, J. H., Stage, J. G., Schlichting, P. & Winkler, K. (1980) Intraperitoneal pressure: ascitic fluid and splanchnic vascular pressures, and their role in prevention and formation of ascites. *Scand J Clin Lab Invest*, 40, 493-501.
- Hubener, P., Braun, G. & Fuhrmann, V. (2018) [Acute-on-chronic liver failure: a diagnostic and therapeutic challenge for intensive care]. *Med Klin Intensivmed Notfmed*, 113, 649-657.
- Jalan, R., Pavesi, M., Saliba, F., Amoros, A., Fernandez, J., Holland-Fischer, P., Sawhney, R., Mookerjee, R., Caraceni, P., Moreau, R., Gines, P., Durand, F., Angeli, P., Alessandria, C., Laleman, W., Trebicka, J., Samuel, D., Zeuzem, S., Gustot, T., Gerbes, A. L., Wendon, J., Bernardi, M., Arroyo, V., Investigators, C. S. & Consortium, E.-C. (2015) The CLIF Consortium Acute Decompensation score (CLIF-C ADs) for prognosis of hospitalised cirrhotic patients without acute-on-chronic liver failure. *J Hepatol*, 62, 831-840.
- Joka, D., Wahl, K., Moeller, S., Schlue, J., Vaske, B., Bahr, M. J., Manns, M. P., Schulze-Osthoff, K. & Bantel, H. (2012) Prospective biopsy-controlled

- evaluation of cell death biomarkers for prediction of liver fibrosis and nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 55, 455-464.
- Jung, Y. K. & Yim, H. J. (2017) Reversal of liver cirrhosis: current evidence and expectations. *Korean J Intern Med*, 32, 213-228.
- Karkmann, K., Piecha, F., Runzi, A. C., Schulz, L., Von Wulffen, M., Benten, D., Kluwe, J. & Wege, H. (2018) [Management of compensated liver cirrhosis 2018 - Evidence based prophylactic measures]. *Z Gastroenterol*, 56, 55-69.
- Kirchhoff, T. D., Rosenthal, H., Merkesdal, S., Ockenga, J., Manns, M. P., Galanski, M. & Caselitz, M. (2002) Indikatoren für das Langzeitüberleben nach Anlage eines transjugulären intrahepatischen portosystemischen Shunts (TIPS). *Der Radiologe*, 42, 745-752.
- Kramer, G., Erdal, H., Mertens, H. J., Nap, M., Mauermann, J., Steiner, G., Marberger, M., Biven, K., Shoshan, M. C. & Linder, S. (2004) Differentiation between cell death modes using measurements of different soluble forms of extracellular cytokeratin 18. *Cancer Res*, 64, 1751-1756.
- Ku, N. O., Strnad, P., Bantel, H. & Omary, M. B. (2016) Keratins: Biomarkers and modulators of apoptotic and necrotic cell death in the liver. *Hepatology*, 64, 966-976.
- Lavallard, V. J., Bonnafous, S., Patouraux, S., Saint-Paul, M. C., Rousseau, D., Anty, R., Le Marchand-Brustel, Y., Tran, A. & Gual, P. (2011) Serum markers of hepatocyte death and apoptosis are non invasive biomarkers of severe fibrosis in patients with alcoholic liver disease. *PLoS One*, 6, e17599.
- Lee, C. K. (2017) Biomarkers and imaging studies to predict portal hypertension and varices. *Clin Liver Dis (Hoboken)*, 9, 94-98.
- Leitlinienprogramm Onkologie, (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe & Awmf). 2022. Diagnostik und Therapie des Hepatozellulären Karzinoms und biliärer Karzinome. Kurzversion 3.0. Available: <https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/hcc-und-biliaere-karzinome/> [Accessed 23.05.2023].

- Leung, J. C., Loong, T. C., Pang, J., Wei, J. L. & Wong, V. W. (2018) Invasive and non-invasive assessment of portal hypertension. *Hepatol Int*, 12, 44-55.
- Luedde, T., Kaplowitz, N. & Schwabe, R. F. (2014) Cell death and cell death responses in liver disease: mechanisms and clinical relevance. *Gastroenterology*, 147, 765-783 e764.
- Lv, Y., Zuo, L., Zhu, X., Zhao, J., Xue, H., Jiang, Z., Zhuge, Y., Zhang, C., Sun, J., Ding, P., Ren, W., Li, Y., Zhang, K., Zhang, W., He, C., Zhong, J., Peng, Q., Ma, F., Luo, J., Zhang, M., Wang, G., Sun, M., Dong, J., Bai, W., Guo, W., Wang, Q., Yuan, X., Wang, Z., Yu, T., Luo, B., Li, X., Yuan, J., Han, N., Zhu, Y., Niu, J., Li, K., Yin, Z., Nie, Y., Fan, D. & Han, G. (2019) Identifying optimal candidates for early TIPS among patients with cirrhosis and acute variceal bleeding: a multicentre observational study. *Gut*, 68, 1297-1310.
- Macdonald, S., Andreola, F., Bachtiger, P., Amoros, A., Pavesi, M., Mookerjee, R., Zheng, Y. B., Gronbaek, H., Gerbes, A. L., Sola, E., Caraceni, P., Moreau, R., Gines, P., Arroyo, V. & Jalan, R. (2018) Cell death markers in patients with cirrhosis and acute decompensation. *Hepatology*, 67, 989-1002.
- Martin, E. F. & O'Brien, C. (2015) Update on MELD and organ allocation. *Clin Liver Dis*, 5, 105-107.
- Masarone, M., Rosato, V., Dallio, M., Gravina, A. G., Aglitti, A., Loguercio, C., Federico, A. & Persico, M. (2018) Role of Oxidative Stress in Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 9547613.
- Maurice, J. & Manousou, P. (2018) Non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Med (Lond)*, 18, 245-250.
- Mc, D. W., Jr. & Adams, R. D. (1954) Episodic stupor associated with an Eck fistula in the human with particular reference to the metabolism of ammonia. *J Clin Invest*, 33, 1-9.
- Membreno, F., Baez, A. L., Pandula, R., Walser, E. & Lau, D. T. (2005) Differences in long-term survival after transjugular intrahepatic portosystemic shunt for refractory ascites and variceal bleed. *J Gastroenterol Hepatol*, 20, 474-481.

- Moller, S., Henriksen, J. H. & Bendtsen, F. (2008) Pathogenetic background for treatment of ascites and hepatorenal syndrome. *Hepatol Int*, 2, 416-428.
- Moon, A. M., Singal, A. G. & Tapper, E. B. (2020) Contemporary Epidemiology of Chronic Liver Disease and Cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 18, 2650-2666.
- Mueller, S., Nahon, P., Rausch, V., Peccerella, T., Silva, I., Yagmur, E., Straub, B. K., Lackner, C., Seitz, H. K., Rufat, P., Sutton, A., Bantel, H. & Longerich, T. (2017) Caspase-cleaved keratin-18 fragments increase during alcohol withdrawal and predict liver-related death in patients with alcoholic liver disease. *Hepatology*, 66, 96-107.
- Mukaka, M. M. (2012) Statistics corner: A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi Med J*, 24, 69-71.
- Okumura, H., Aramaki, T. & Katsuta, Y. (1989) Pathophysiology and epidemiology of portal hypertension. *Drugs*, 37 Suppl 2, 2-12; discussion 47.
- Omary, M. B. & Ku, N. O. (1997) Intermediate filament proteins of the liver: emerging disease association and functions. *Hepatology*, 25, 1043-1048.
- Oweira, H., Sadeghi, M., Volker, D., Mieth, M., Zidan, A., Khajeh, E., Ghamarnejad, O., Fonouni, H., Weiss, K. H., Schmidt, J., Lahdou, I. & Mehrabi, A. (2018) Serum Caspase-Cleaved Cytokeratin (M30) Indicates Severity of Liver Dysfunction and Predicts Liver Outcome. *Ann Transplant*, 23, 393-400.
- Pegoraro, A. F., Janmey, P. & Weitz, D. A. (2017) Mechanical Properties of the Cytoskeleton and Cells. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 9.
- Peng, Y., Qi, X. & Guo, X. (2016) Child-Pugh Versus MELD Score for the Assessment of Prognosis in Liver Cirrhosis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *Medicine (Baltimore)*, 95, e2877.
- Piecha, F., Jahn, B. V., Kontopf, J., Koop, A., Ozga, A. K., Al-Jawazneh, A., Harberts, A., Riedel, C., Buggisch, P., Benten, D., Hubener, P., Adam, G., Huber, S., Lohse, A. W., Bannas, P. & Kluwe, J. (2024) Recompensation of Liver Cirrhosis by TIPS Reduces Epithelial Cell Death Markers, Translating Into Improved Clinical Outcome. *Liver Int*.

- Piecha, F., Radunski, U. K., Ozga, A. K., Steins, D., Drolz, A., Horvatits, T., Spink, C., Ittrich, H., Benten, D., Lohse, A. W., Sinning, C. & Kluwe, J. (2019) Ascites control by TIPS is more successful in patients with a lower paracentesis frequency and is associated with improved survival. *JHEP Rep*, 1, 90-98.
- Rabie, R. N., Cazzaniga, M., Salerno, F. & Wong, F. (2009) The use of E/A ratio as a predictor of outcome in cirrhotic patients treated with transjugular intrahepatic portosystemic shunt. *Am J Gastroenterol*, 104, 2458-2466.
- Radeleff, B. (2021) *Angiofibel: Interventionelle angiographische Diagnostik und Therapie*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2021.
- Rassow, J., Netzker, R., Hauser, K. & Deutzmann, R. (2016) Enzyme-linked immunosorbent Assay (ELISA). *Duale Reihe Biochemie*. 4 ed. Stuttgart: Thieme.
- Reiberger, T. (2012) Pathophysiologie der portalen Hypertension als Voraussetzung innovativer Therapien. *J Gastroenterol Hepatol Erkr*, 10 (2), 28-33.
- Ripoll, C., Groszmann, R., Garcia-Tsao, G., Grace, N., Burroughs, A., Planas, R., Escorsell, A., Garcia-Pagan, J. C., Makuch, R., Patch, D., Matloff, D. S., Bosch, J. & Portal Hypertension Collaborative, G. (2007) Hepatic venous pressure gradient predicts clinical decompensation in patients with compensated cirrhosis. *Gastroenterology*, 133, 481-488.
- Romanelli, R. G. & Stasi, C. (2016) Recent Advancements in Diagnosis and Therapy of Liver Cirrhosis. *Curr Drug Targets*, 17, 1804-1817.
- Rossle, M. (2013) TIPS: 25 years later. *J Hepatol*, 59, 1081-1093.
- Rossle, M. & Gerbes, A. L. (2010) TIPS for the treatment of refractory ascites, hepatorenal syndrome and hepatic hydrothorax: a critical update. *Gut*, 59, 988-1000.
- Roth, G. A., Lebherz-Eichinger, D., Ankersmit, H. J., Hacker, S., Hetz, H., Vukovich, T., Perne, A., Reiter, T., Farr, A., Horl, W. H., Haas, M. & Krenn, C. G. (2011) Increased total cytokeratin-18 serum and urine levels in chronic kidney disease. *Clin Chim Acta*, 412, 713-717.

- Sauerbruch, T., Appenrodt, B., Schmitz, V. & Spengler, U. (2013) The conservative and interventional treatment of the complications of liver cirrhosis: Part 2 of a series on liver cirrhosis. *Dtsch Arztebl Int*, 110, 126-132, I.
- Schuppan, D. & Afdhal, N. H. (2008) Liver cirrhosis. *Lancet*, 371, 838-851.
- Sengstaken, R. W. & Blakemore, A. H. (1950) Balloon tamponade for the control of hemorrhage from esophageal varices. *Ann Surg*, 131, 781-789.
- Silbernagel, S. (2019) Portaler Hochdruck. In: Silbernagel, S. & Lang, F. (eds.) *Taschenatlas Pathophysiologie*. 6 ed. Stuttgart: Thieme.
- Simonetto, D. A., Liu, M. & Kamath, P. S. (2019) Portal Hypertension and Related Complications: Diagnosis and Management. *Mayo Clin Proc*, 94, 714-726.
- Siramolpiwat, S. (2014) Transjugular intrahepatic portosystemic shunts and portal hypertension-related complications. *World J Gastroenterol*, 20, 16996-17010.
- Soresi, M., Giannitrapani, L., Cervello, M., Licata, A. & Montalto, G. (2014) Non invasive tools for the diagnosis of liver cirrhosis. *World J Gastroenterol*, 20, 18131-18150.
- Stiegmann, G. V., Goff, J. S., Sun, J. H., Davis, D. & Bozdech, J. (1989) Endoscopic variceal ligation: an alternative to sclerotherapy. *Gastrointest Endosc*, 35, 431-434.
- Stoffers, P., Guckenbiehl, S., Welker, M. W., Zeuzem, S., Lange, C. M., Trebicka, J., Herrmann, E. & Welsch, C. (2022) Diagnostic and prognostic significance of cell death markers in patients with cirrhosis and acute decompensation. *PLoS One*, 17, e0263989.
- Strnad, P., Paschke, S., Jang, K. H. & Ku, N. O. (2012) Keratins: markers and modulators of liver disease. *Curr Opin Gastroenterol*, 28, 209-216.
- Strunk, H. & Marinova, M. (2018) Transjugular Intrahepatic Portosystemic Shunt (TIPS): Pathophysiologic Basics, Actual Indications and Results with Review of the Literature. *Rofo*, 190, 701-711.

- Torruellas, C., French, S. W. & Medici, V. (2014) Diagnosis of alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol*, 20, 11684-11699.
- Turco, L., Reiberger, T., Vitale, G. & La Mura, V. (2023) Carvedilol as the new non-selective beta-blocker of choice in patients with cirrhosis and portal hypertension. *Liver Int*, 43, 1183-1194.
- Villanueva, C., Albillos, A., Genesca, J., Garcia-Pagan, J. C., Calleja, J. L., Aracil, C., Banares, R., Morillas, R. M., Poca, M., Penas, B., Augustin, S., Abraldes, J. G., Alvarado, E., Torres, F. & Bosch, J. (2019) beta blockers to prevent decompensation of cirrhosis in patients with clinically significant portal hypertension (PREDESCI): a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet*, 393, 1597-1608.
- Villanueva, C., Torres, F., Sarin, S. K., Shah, H. A., Tripathi, D., Brujats, A., Rodrigues, S. G., Bhardwaj, A., Azam, Z., Hayes, P. C., Jindal, A., Abid, S., Alvarado, E., Bosch, J., Carvedilol, I. P. D. M. a. G. & The Baveno Cooperation: An, E. C. (2022) Carvedilol reduces the risk of decompensation and mortality in patients with compensated cirrhosis in a competing-risk meta-analysis. *J Hepatol*, 77, 1014-1025.
- Vilstrup, H., Amodio, P., Bajaj, J., Cordoba, J., Ferenci, P., Mullen, K. D., Weissenborn, K. & Wong, P. (2014) Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the European Association for the Study of the Liver. *Hepatology*, 60, 715-735.
- Wai, C. T., Greenson, J. K., Fontana, R. J., Kalbfleisch, J. D., Marrero, J. A., Conjeevaram, H. S. & Lok, A. S. (2003) A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*, 38, 518-526.
- Whipple, A. O. (1945) The Problem of Portal Hypertension in Relation to the Hepatosplenopathies. *Ann Surg*, 122, 449-475.
- Wieckowska, A., Zein, N. N., Yerian, L. M., Lopez, A. R., Mccullough, A. J. & Feldstein, A. E. (2006) In vivo assessment of liver cell apoptosis as a novel

- biomarker of disease severity in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 44, 27-33.
- Wiegand, J. & Berg, T. (2013) The etiology, diagnosis and prevention of liver cirrhosis: part 1 of a series on liver cirrhosis. *Dtsch Arztebl Int*, 110, 85-91.
- Woolbright, B. L., Bridges, B. W., Dunn, W., Olson, J. C., Weinman, S. A. & Jaeschke, H. (2017) Cell Death and Prognosis of Mortality in Alcoholic Hepatitis Patients Using Plasma Keratin-18. *Gene Expr*, 17, 301-312.
- Younossi, Z. M., Koenig, A. B., Abdelatif, D., Fazel, Y., Henry, L. & Wymer, M. (2016) Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*, 64, 73-84.
- Zhang, X., Li, J., Jiang, L., Deng, Y., Wei, L. & Li, X. (2024) Serum Cytokeratin-18 levels as a prognostic biomarker in advanced liver disease: a comprehensive meta-analysis. *Clin Exp Med*, 24, 160.
- Zhou, W. C., Zhang, Q. B. & Qiao, L. (2014) Pathogenesis of liver cirrhosis. *World J Gastroenterol*, 20, 7312-7324.

9. Abkürzungsverzeichnis

ACLF	Akut-auf-chronisches Leberversagen (engl. acute-on-chronic liver failure)
AH	Alkoholische Hepatitis
AIH	Autoimmunhepatitis
AKI	Akute Niereninsuffizienz (engl. acute kidney injury)
ALD	alkoholische Lebererkrankung (engl. alcohol-related liver disease)
APRI	AST/Thrombozyten-Ratio Index
ASH	Alkoholische Steatohepatitis
CK-18	Zytokeratin-18 (engl. cytokeratin-18)
CKD	Chronische Nierenerkrankung (engl. chronic kidney disease)
CLIF-C AD Score	CLIF Consortium Acute Decompensation Score
CPS	Child-Pugh-Score
CSPH	klinisch signifikante Portale Hypertension (engl. clinically significant)
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FHVP	Freier hepatischer Venendruck (engl. free hepatic venous pressure)
Fib-4	Fibrose-Score 4
FU	Follow-up
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate

GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminasen
HABR	hepatic arterial buffer response
HBV	Hepatitis B Virus
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HCV	Hepatitis C Virus
HE	Hepatische Enzephalopathie
HRS	Hepatorenales Syndrom
HVPG	Hepatisch-venöser Druckgradient (engl. hepatic venous pressure gradient)
INR	International Normalized Ratio
IQR	Interquartilsabstand (engl. interquartile range)
MELD	Model for end-stage liver disease
NAFLD	Nichtalkoholische Fettlebererkrankung (engl. non-alcoholic liver disease)
NAS	NAFLD activitiy score
NASH	Nichtalkoholische Steatohepatitis
NO	Stickstoffmonoxid
NSBB	Nicht-selektive Betablocker
PH	Portale Hypertension
PTFE	Polytetrafluorethylen

Q	Blutfluss
R	Strömungswiderstand
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
SAAG	Serum-Aszites-Albumin-Gradient
SBP	Spontan bakterielle Peritonitis
SD	Standardabweichung
TE	Transiente Elastographie
TGF β	Transforming growth facotor beta
TIPS	Transjugulärer intrahepatischer portosystemischer Shunt
TNF α	Tumornekrosefaktor alpha
UKE	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
WHVP	Lebervenenverschlussdruck (engl. wedged hepatic venous pressure)
ΔP	Änderung des Pfortaderdrucks

10. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Pathophysiologie der portalen Hypertension nach (Bosch und Garcia-Pagan 2000).....	12
Abbildung 2: Schematische Darstellung der TIPS-Anlage nach (Rossle und Gerbes 2010)..	20
Abbildung 3: Flowchart zur Darstellung des Follow-up.....	34
Abbildung 4: Plasmalevel von M30 bei Patienten mit kompensierter und dekomensierter Leberzirrhose.	41
Abbildung 5: Plasmalevel von M65 bei Patienten mit kompensierter und dekomensierter Leberzirrhose.....	42
Abbildung 6: Plasmalevel von M30 in allen drei Kompartimenten bei Patienten mit PH...	43
Abbildung 7: Plasmalevel von M65 in allen drei Kompartimenten bei Patienten mit PH...	44
Abbildung 8: M30-Plasmakonzentration von Patienten mit einem late FU zu allen Messzeitpunkten.....	46
Abbildung 9: M65-Plasmakonzentration von Patienten mit einem late FU zu allen Messzeitpunkten.....	47
Abbildung 10: M30-Plasmakonzentration von Patienten mit kompensierter Leberzirrhose und Patienten mit PH vor sowie nach der TIPS-Anlage..	48
Abbildung 11: M65-Plasmakonzentration von Patienten mit kompensierter Leberzirrhose und Patienten mit PH vor sowie nach der TIPS-Anlage..	49
Abbildung 12: Plasmalevel von M30 unterteilt nach TIPS-Ansprechen in Lebervene, Pfortader und peripherem Plasma vor der TIPS-Anlage (peripher venös).	51
Abbildung 13: Plasmalevel von M65 unterteilt nach TIPS-Ansprechen in Lebervene, Pfortader und peripherem Plasma vor der TIPS-Anlage (peripher venös).	52

Abbildung 14: M30-Plasmakonzentration von Patienten mit erfolgreichem TIPS-Ansprechen zu den Messzeitpunkten Prä TIPS, short, early und late FU.....	53
Abbildung 15: M65-Plasmakonzentration von Patienten mit erfolgreichem TIPS-Ansprechen zu den Messzeitpunkten Prä TIPS, short, early und late FU.....	54
Abbildung 16: M30-Plasmakonzentration von Patienten mit fehlendem TIPS-Ansprechen und early FU zu den Messzeitpunkten Prä TIPS, short und early FU..	55
Abbildung 17: M65-Plasmakonzentration von Patienten mit fehlendem TIPS-Ansprechen und early FU zu den Messzeitpunkten Prä TIPS, short und early FU..	55
Abbildung 18: Plasmalevel von M30 unterteilt nach TIPS-Ansprechen zum short und early FU.	56
Abbildung 19: Plasmalevel von M65 unterteilt nach TIPS-Ansprechen zum short und early FU.	57
Abbildung 20: Kreislauf aus PH, Zelltod und Fibrose	69

11. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verbrauchsmaterialien für Sammlung und Verarbeitung der Patientenproben (Studienblut)	30
Tabelle 2: Materialien für den M30 und M65 ELISA	30
Tabelle 3: Verwendete Software.....	31
Tabelle 4: Interpretation des Korrelationskoeffizienten nach Mukaka et al.	36
Tabelle 5: Patientencharakteristika unterteilt in TIPS-Kohorte und Kontrollkohorte	37
Tabelle 6: Daten zur TIPS-Anlage. Anamnestische Daten der Patienten vor TIPS-Anlage sowie der Parameter während des Eingriffes.	39
Tabelle 7: Korrelationskoeffizienten der Analyse von M30 mit klinischen Scores, Druckparametern sowie Laborparametern.	58
Tabelle 8: Korrelationskoeffizienten der Analyse von M65 mit klinischen Scores, Druckparametern sowie Laborparametern.	59
Tabelle 9: Korrelationskoeffizienten zur Analyse von M30 unterteilt nach Respondern und Non-Respondern.	60
Tabelle 10: Korrelationskoeffizienten von der Analyse mit M65 für Responder und Non-Responder.	62
Tabelle 11: Klassifizierungstabelle (peripheres Plasma)	64
Tabelle 12: Prädiktionsmodell anhand logistischer Regression (peripheres Plasma)	65
Tabelle 13: Klassifizierungstabelle (Lebervene)	66
Tabelle 14: Prädiktionsmodell anhand logistischer Regression (Lebervene)	66

12. Veröffentlichungen

Piecha F, Jahn BV, Köntopf J, Koop A, Ozga AK, Al-Jawazneh A, Harberts A, Riedel C, Buggisch P, Benten D, Hübener P, Adam G, Huber S, Lohse AW, Bannas P, Kluwe J. Recompensation of Liver Cirrhosis by TIPS Reduces Epithelial Cell Death Markers, Translating Into Improved Clinical Outcome. Liver Int. 2024 Nov 12

The International Liver Congress 2020: Session Poster: Cirrhosis and its complications: Clinical. Abstract Title: Epithelial cell death markers M65 and M30 are significantly up-regulated in decompensated liver cirrhosis and decreased by correction of portal hypertension.

13. Erklärung des Eigenanteils

Im Rahmen dieser Doktorarbeit leistete ich und weitere Wissenschaftler einen Eigenanteil. Die Entwicklung des Studiendesigns erfolgte durch Priv.-Doz. Dr. med. Johannes Kluwe und Dr. med. Felix Piecha. Die Formulierung der Hypothesen, dass ein Zusammenhang zwischen portaler Hypertension, hepatischem Zelltod und TIPS-Anlage sowie eine prognostische Bedeutung von M30 und M65 in diesem Patientenkollektiv besteht, erfolgte durch mich in Zusammenarbeit mit Priv.-Doz. Dr. Kluwe und Dr. med. Felix Piecha. Die Etablierung der Studie sowie Sammlung erster klinischer Daten und Blutproben im Zeitraum von September 2018 bis einschließlich März 2019 erfolgte durch Dr. med. Felix Piecha. Die laborchemische Untersuchung und Asservierung der Proben in diesem Zeitraum wurde durch Dr. Anja Koop durchgeführt. Die Abnahme des peripher-venösen Blutes erfolgt durch Ärzte der 1. Medizinischen Klinik des Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf. Ab April 2019 führte ich die Fragebogen, Patientenrekrutierung, Studienplanung, Abnahme der invasiv gewonnen Blutproben, Verarbeitungen der gewonnenen Blutproben von TIPS- als auch Kontrollkohorte, laborchemischen Messungen mittels ELISA sowie Sammlung klinischer Daten und statistische Auswertung der in dieser Doktorarbeit definierten Patientengruppe durch. Die klinischen Daten zur Kontrollkohorte wurden von Adina Pfeil zusammengetragen. Ich führte eine umfassende Literaturrecherche durch, um den aktuellen Stand der Forschung sowie die Relevanz der Hypothesen und Fragestellung zu verstehen und hervorzuheben. Nach der Datenerhebung analysierte ich die gesammelten Daten mithilfe von SPSS und GraphPad mit initialer Anleitung durch Dr. Anja Koop. Bei der Verfassung der Dissertation achtete ich auf eine klare Struktur und orientierte mich an aktuellen wissenschaftlichen Standards. Zusätzlich präsentierte ich erste Ergebnisse auf dem International liver congress 2020 und stehe als Co-Autor im Artikel „*Recompensation of Liver Cirrhosis by TIPS Reduces Epithelial Cell Death Markers, Translating Into Improved Clinical Outcome.*“

14. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe, insbesondere ohne entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten, verfasst, andere als die von mir angegebenen 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. Das gilt insbesondere auch für alle Informationen aus Internetquellen.

Soweit beim Verfassen der Dissertation KI-basierte Tools („Chatbots“) verwendet wurden, versichere ich ausdrücklich, den daraus generierten Anteil deutlich kenntlich gemacht zu haben. Die „Stellungnahme des Präsidiums der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) zum Einfluss generativer Modelle für die Text- und Bilderstellung auf die Wissenschaften und das Förderhandeln der DFG“ aus September 2023 wurde dabei beachtet.

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.

Ich erkläre mich damit einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Datum

Unterschrift

15. Danksagung

Priv.-Doz. Dr. med Johannes Kluwe für die freundliche Zusammenarbeit und regen Diskussionen, Unterstützung hinsichtlich der Planung, Organisation und Durchführung der Studie als auch der Dissertation sowie die Anregung und Unterstützung zur Teilnahme am EASL International liver congress 2020.

Dr. med. Felix Piecha für die kompetente Einarbeitung in die Studie, den fachlichen und organisatorischen Support sowie Anfertigung der Publikation.

Dr. Anja Koop für die Einarbeitung und Beantwortung unzähliger fachlicher Fragen im laborchemischen Bereich, die Unterstützung bei der Durchführung der ELISA und statistischen Auswertung sowie die Entwicklung einer schönen Freundschaft.

Johannes Köntopf für die Fortführung der Datensammlung und Beendigung der Studie sowie Unterstützung bei der Publikation.

Adina Pfeil für die Sammlung der Proben und klinischen Daten der Kontrollkohorte.

AG Herkel/AG Schramm für die Möglichkeit zur Durchführung der experimentellen Komponente der Doktorarbeit hinsichtlich fachlicher Fragen und Materialien sowie das freundliche Miteinander im Labor.

Meiner Familie, Freunden und meinem Freund für die unermüdliche mentale Unterstützung sowie stetigem Support gepaart mit etwas Druck und Mut.