

**Erhöhte Serumkonzentrationen löslicher Tumor-Nekrose-Faktor-Rezeptoren  
als prognostischer Marker bei Patienten mit  
Leberzirrhose ohne akute Infektionen**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität  
Bonn**

**vorgelegt von: Bettina Irene Rezori  
aus: Marl**

**2006**

Angefertigt mit der Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Privatdozent Dr. med. Christoph Reichel
2. Gutachter: Professor Dr. med. Jörg C. Kalff

Tag der mündlichen Prüfung: 28. September 2006

Medizinische Universitätsklinik und Poliklinik I  
Allgemeine Innere Medizin mit den Schwerpunkten Gastroenterologie-Hepatologie,  
Hämatologie-Onkologie, Nephrologie  
Universitätskliniken Bonn  
Direktor Professor Dr. Tilman Sauerbruch

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn  
[http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss\\_online](http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online) elektronisch publiziert

*Meinen Eltern*



## Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>5</b>
<b>Einleitung</b>	<b>7</b>
<b>Material und Methoden</b>	<b>9</b>
<i>Patienten</i>	9
<i>Studiendesign</i>	10
<i>Analytik</i>	12
Messung der Laborparameter	12
Messung der löslichen TNF Rezeptoren sTNF-R55 und sTNF-R75	12
Messung der IL-6 Serumkonzentrationen	12
<i>Statistik</i>	12
<b>Ergebnisse</b>	<b>15</b>
<i>Patienten</i>	15
<i>Ergebnisse der Querschnittskohortenstudie</i>	17
Verteilung der Parameter in Abhängigkeit der Child-Pugh-Klassifikation	18
Entzündungsparameter, lösliche TNF-Rezeptoren, Cystatin C und Nierenfunktionsparameter in Abhängigkeit der Child-Pugh-Klassifikation	20
Bivariate Korrelationsanalyse	21
Darstellung der Prognosescores in Abhängigkeit der Child-Pugh-Klassifikation	22
Cystatin C und Kreatinin als Nierenfunktionsparameter bei Patienten mit Leberzirrhose in Abhängigkeit der Kreatinin-Clearance	23
<i>Prospektive Kohortenstudie</i>	25
Vergleich der Prognoseparameter für lebende und im Beobachtungszeitraum von 6 und 15 Monaten verstorbene Patienten	26
Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtkollektivs	31
Kumulatives Überleben in Abhängigkeit der untersuchten Prognosescores	32

<i>ROC-Analysen</i> -----	36
ROC-Vergleich der Prognoseparameter-----	36
ROC-Analysen der Parameter Kreatinin und Cystatin C -----	42
<i>Multivariate Analyse</i> -----	43
<i>Untersuchung der Prognoseparameter anhand der Alkoholgenese</i> -----	45
Verteilung der Child-Pugh-Score Punkte-----	45
Verteilung der Einzelparameter und Prognosescores in Abhängigkeit von der Alkoholgenese -----	46
ROC-Vergleich von MELD und sTNF-R75 im Hinblick auf die Genese „Alkohol“ und „andere Genese“ -----	48
<b>Diskussion</b> -----	<b>53</b>
<b>Zusammenfassung</b> -----	<b>65</b>
<b>Literaturverzeichnis</b> -----	<b>66</b>
<b>Danksagung</b> -----	<b>71</b>

## Einleitung

Man bedient sich verschiedener Prognosescores, um bei Patienten mit Leberzirrhose den Schweregrad der Erkrankung einschätzen zu können, und damit die Indikation zur Lebertransplantation rechtzeitig zu stellen.

Der älteste dieser Scores ist der Child-Pugh-Score (Pugh et al., 1973), der die Parameter Albumin, Bilirubin und Quick, sowie die Quantifizierung von Aszites und Enzephalopathie berücksichtigt.

Kamath und Mitarbeiter entwickelten 2001 den MELD-Score (Model for End Stage Liver Disease), welcher sich aus den Parametern Bilirubin, Kreatinin und INR zusammensetzt und seit 2002 in den Vereinigten Staaten vom United Network for Organ Sharing (UNOS) als Kriterium für den Schweregrad der Lebererkrankung und damit den Status auf der Transplantationswarteliste herangezogen wird (Kamath et al., 2001).

Neben diesen Prognosescores wird auch die prognostische Wertigkeit des löslichen TNF-Rezeptors sTNF-R75 im Rahmen der Leberzirrhose diskutiert.

Mit sTNF-R55 und sTNF-R75 existieren zwei Arten der löslichen, im Serum nachweisbaren TNF-Rezeptoren. Erhöhte Serumkonzentrationen von löslichen TNF-Rezeptoren wie sTNF-R55 und sTNF-R75 sind ein Indikator für die Aktivierung des TNF- $\alpha$ /TNF-Rezeptor Systems (Cope et al., 1995; Diez-Ruiz et al., 1995).

Bei Patienten mit fortgeschrittener Leberzirrhose kommt es zu einer Aktivierung des TNF-Systems, welche wahrscheinlich durch mangelnde Entgiftung von enteralen Bakterien und intestinalen Endotoxinen bedingt ist (Tilg et al., 1992; Muños et al., 2005; Lee et al., 1996). Diese erhöhten Spiegel von TNF- $\alpha$  können wiederum zu einem vermehrten Shedding von löslichen TNF-Rezeptoren führen.

Da erhöhte Serumkonzentrationen von sTNF-R55 und sTNF-R75 bis zu 24 Stunden nach Freisetzung von der Zellmembran im Serum nachweisbar sind und damit eine längere Halbwertszeit als TNF- $\alpha$  haben, scheinen sie zuverlässigere Indikatoren für eine TNF-Aktivierung zu sein als TNF- $\alpha$  selbst (Bemelmans et al., 1993 a; Spengler et al., 1996; Naveau et al., 1998).

Reichel und Mitarbeiter haben in einer Pilotstudie Serumkonzentrationen von sTNF-R75 als Prognosemarker bei Patienten mit Leberzirrhose ohne akute Infektion untersucht und festgestellt, dass sTNF-R75 das 15-monatige Überleben der Patienten signifikant

genauer voraussagt als der Child-Pugh-Score. Die Zahl der untersuchten Patienten war mit  $n = 30$  jedoch relativ gering (Reichel et al., 2000).

Ziel der vorliegenden Studie war es daher, diesen Befund an einem größeren Patientenkollektiv zu validieren. Dazu haben wir prospektiv bei  $n = 92$  Patienten mit Leberzirrhose ohne akute Infektion unterschiedlicher Ätiologie die Serumkonzentrationen der löslichen TNF-Rezeptoren sTNF-R55 und sTNF-R75 gemessen und mit zu Studienbeginn berechneten Scores in einer Querschnittskohortenstudie verglichen. Dabei konnten wir im Rahmen einer prospektiven Kohortenstudie erstmalig auch die prognostische Wertigkeit der sTNF-R75 Serumkonzentrationen direkt mit dem MELD-Score vergleichen.



## **Material und Methoden**

### ***Patienten***

In die prospektive Studie wurden von Dezember 2000 bis November 2002 in der Medizinischen Klinik und Poliklinik I der Universitätskliniken Bonn Patienten mit sicheren Zeichen einer Leberzirrhose eingeschlossen.

Als sichere Zeichen galten eine histologisch gesicherte Zirrhose oder das Vorliegen zuvor definierter Kriterien. Diese bestanden in dem Vorhanden sein von Ösophagusvarizen und mindestens einem der folgenden Untersuchungsbefunde in einem bildgebenden Verfahren (Ultraschall, CT, MRT): 1) kleine Leber, 2) Befund einer Zirrhose in der Bildgebung.

Um auszuschließen, dass sich akute Infektionen auf die Testergebnisse der Messungen der löslichen TNF-Rezeptoren auswirken, wurden Patienten mit klinischen Zeichen akuter bakterieller und viraler Infektionen innerhalb der letzten 7 Tage vor Untersuchung nicht in die Studie eingeschlossen. Weitere Ausschlusskriterien waren eine gastrointestinale Blutung innerhalb der letzten 30 Tage vor Studieneinschluss, nachgewiesene Tumorerkrankungen, erhöhte Konzentrationen von Alpha Feto Protein (über 20 ng/ml) und zusätzliche schwere Erkrankungen. Zu den letztgenannten Erkrankungen zählten unter anderem Herzversagen, organisches Nierenversagen (nicht hepatorenales Syndrom), schwere Lungenerkrankungen, HIV Infektion, Lebertransplantation und entzündliche Darmerkrankungen.

Von allen Patienten wurde eine unterzeichnete Einverständniserklärung abgegeben. Das Studienprotokoll ist von der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität entsprechend der Deklaration von Helsinki genehmigt worden.

## **Studiendesign**

Jeder Patient begann die Studie vor dem Frühstück. Im nüchternen Zustand wurden ein EDTA- und zwei Serumröhrchen Blut zur Bestimmung von Laborparametern entnommen.

Folgende Serumparmeter wurden bestimmt: Leukozyten, Hämoglobin, Thrombozyten, Quickwert, Partielle Thromboplastinzeit, INR, Natrium, Kreatinin, Cystatin C,  $\beta_2$ -Mikroglobulin, Alkalische Phosphatase,  $\gamma$ GT, Bilirubin, GPT, Albumin, CRP und IL-6.

Eines der Serumröhrchen wurde direkt nach Blutentnahme zentrifugiert [Beckman SPINCHRON KR, 2500 rpm, 10 min], aliquotiert und das Serum maximal 3 Wochen bei  $-70$  Grad Celsius bis zur sTNF-R55, sTNF-R75 und IL-6 Messung eingefroren.

Bei allen Patienten wurden demographische Daten erhoben. Es wurden Alter und Gewicht, der tägliche Alkoholkonsum, der Ösophagusvarizenstatus, Aszites- und Peritonitisepisoden, gastrointestinale Blutungen und vor Einschluss in die Studie bestehende Erkrankungen sowie deren Therapie dokumentiert. Die Indikation und der Zeitpunkt einer TIPS-Anlage (Transjugulärer Intrahepatischer Portosystemischer Stent) wurden ebenfalls notiert. Zur Einschätzung des Grades der hepatischen Enzephalopathie wurde mit den Patienten ein Zahlenverbindungstest nach Conn und Mitarbeitern durchgeführt (Conn et al., 1981).

Im Laufe des ersten Tages wurde der 24-Stunden Urin der Patienten gesammelt und das Volumen sowie die Natrium- und Kreatininwerte bestimmt. Auch diese Proben wurden aliquotiert und bei  $-70$  Grad Celsius eingefroren.

Mit Hilfe der Laborergebnisse und der dokumentierten Daten wurden schließlich folgende Prognosescores bestimmt:

Der von Kamath und Mitarbeitern entwickelte MELD-Score wird mit den Serumkonzentrationen von Bilirubin und Kreatinin, der INR und der Genese mit folgender Formel berechnet:

$$3,8 * \text{LN}(\text{Bilirubin}) + 11,2 * \text{LN}(\text{INR}) + 9,6 * \text{LN}(\text{Kreatinin}) + 6,4 * \text{LN}(\text{Genese})$$

(Kamath et al.; 2001). Die Genese wird dabei wie folgt kodiert: Genese = 1, wenn alkoholtoxisch oder cholestatisch, Genese = 0 bei allen anderen Ätiologien. In der

gleichen Studie fanden Kamath und Mitarbeiter heraus, dass ein modifizierter MELD-Score ohne Einfluss der Genese nur minimale Unterschiede in der prognostischen Wertigkeit aufweist.

Die MELD-Scores der Patienten unseres Kollektivs wurden in unserer Studie daher in Anlehnung an den von Kamath und Mitarbeitern modifizierten MELD-Score zusätzlich ohne Einbeziehung der Genese berechnet (Kamath et al.; 2001). Da sich in unseren Untersuchungen ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Varianten ergaben, wurden alle in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse mit dem MELD-Score ohne einbezogene Genese berechnet.

Der Christensen-Score wurde in Anlehnung an das von der Arbeitsgruppe Christensen entwickelte und modifizierte Modell berechnet (Christensen et al., 1986; 1997). Nach diesem Modell werden die Parameter Alter, täglicher Alkoholkonsum, Zahl der gastrointestinalen Blutungen, Ernährungszustand, Serumbilirubin, Quickwert, Alkalische Phosphatase, Albumin, Aszites und Leberhistologie bestimmt. Jedem Messergebnis eines Parameters wird entsprechend eines „pocket charts“ ein Punktwert zugeteilt. Diese Punkte addieren sich zu der Summe S. Der Prognose-Index PI berechnet sich schließlich mit der Formel  $PI = S/10 - 6$ . Anhand der von Christensen und Mitarbeitern vorgegebenen Kurven kann man mit Hilfe des errechneten PI ablesen, mit welcher Wahrscheinlichkeit der Patient die nächsten drei oder sechs Monate überlebt.

Wie von Christensen und Mitarbeitern vorgeschlagen, wurde die Leberhistologie in dieser Studie nicht berücksichtigt (Christensen et al., 1997).

Der Child-Pugh-Score wird anhand der Parameter Albumin, Bilirubin und Quick, sowie der Quantifizierung von Aszites und Enzephalopathie berechnet (Pugh et al., 1973).

Nach 6, 15 und 24 Monaten wurden die Patienten oder ihre Angehörigen telefonisch kontaktiert. Die Patienten wurden anhand eines standardisierten Fragebogens nach dem Auftreten folgender Ereignisse in dem entsprechenden Beobachtungszeitraum befragt: gastrointestinale Blutung, Operationen, Aszites, Peritonitis, Krankenhausaufenthalt, TIPS-Implantation und Lebertransplantation.

Im Falle des Todes des Patienten wurde der zuletzt behandelnde Arzt kontaktiert und versucht die Todesursache näher einzugrenzen.

## ***Analytik***

### **Messung der Laborparameter**

Die Laborparameter wurden vom Zentrallabor der Universitätskliniken Bonn umgehend nach Entnahme des Blutes nach Standardmethoden bestimmt. Zur Blutentnahme wurden Monovetten der Firma Sarstedt® verwendet (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland). Auch die Messung der Parameter Natrium und Kreatinin im Urin erfolgte im Zentrallabor der Universitätskliniken Bonn nach Standardmethoden.

### **Messung der löslichen TNF Rezeptoren sTNF-R55 und sTNF-R75**

Die löslichen TNF Rezeptoren sTNF-RI (p55) und sTNF-RII (p75) wurden mit Hilfe eines Enzyme Amplified Sensitivity Immunoassay (EASIA) gemessen. Hierzu wurden Kits der Firma Biosource® (Medgenics Diagnostics, Fleurus, Belgien) genutzt.

Für die sTNF-R55 Messungen beträgt der Messbereich laut Herstellerprotokoll 0,3 bis 2,9 ng/ml, die untere Nachweisgrenze (Minimal Detectable Concentration MDC) liegt bei 50 pg/ml.

Im Falle der sTNF-R75 Messungen beträgt der Messbereich 1,91 bis 8,51 ng/ml, die MDC liegt bei 0,1 ng/ml.

### **Messung der IL-6 Serumkonzentrationen**

Die Serumkonzentrationen des Entzündungsparameters IL-6 wurden mit einem Cytometric Bead Array gemessen. Hierzu wurden Kits der Firma BD Biosciences® verwendet (BD Biosciences, Clontech, Discovery Labware, Immunocytometric Systems, Pharmingen).

## ***Statistik***

Die statistische Analyse der vorliegenden Studie wurde mit dem SPSS Software Paket (Chicago, Illinois, USA) durchgeführt. Lediglich für die cut-off Bestimmung der ROC-Analysen wurde das Statistikprogramm MedCalc® (MedCalc Software, Mariakerke, Belgien) verwendet.

Alle dargestellten Ergebnisse werden als Mittelwerte mit 95% Konfidenzintervall dargestellt; die statistische Analyse der Messdaten und berechneten Scores beziehen sich auf eine 6-monatige und 15-monatige Beobachtungszeit der 92 Patienten.

Die Powerkalkulation erfolgte aufgrund der Ergebnisse der von Reichel und Mitarbeitern durchgeführten Pilotstudie (Reichel et al., 2000). Wir haben aufgrund der von Butt und Mitarbeitern gefundenen Kurzzeitmortalität von 22% bei vergleichbarem Patientengut die 6-Monatsmortalität unserer Patienten auf mindestens 30% geschätzt (Butt et al., 1998). Daher erwarteten wir bei 92 Patienten 30 Ereignisse nach 6 Monaten. Dies ermöglichte einen Vergleich von vier Variablen.

Für die Korrelationsuntersuchung der einzelnen Messwerte wurde Spearman's Rangkorrelationstest für nicht normal verteilte Variablen verwendet.

Mit folgenden Parametern wurde eine bivariate Korrelationsanalyse durchgeführt: sTNF-R55, sTNF-R75, Cystatin C, Bilirubin, Kreatinin und Kreatinin-Clearance.

In Abhängigkeit des Child-Pugh-Scores wurden sTNF-R55, sTNF-R75, die Leukozytenzahl, CRP, IL-6, Kreatinin und die Kreatinin-Clearance mittels nonparametrischer Varianzanalyse nach Kruskal-Wallis miteinander verglichen. Im Falle von signifikanten Ergebnissen wurden die einzelnen Gruppen anhand des nichtparametrischen Mann-Whitney-U Tests verglichen. Die post-hoc Signifikanzniveaus wurden für multiple Vergleiche nach Bonferroni korrigiert. Zusätzlich haben wir Child-Pugh-Score Punkte, MELD-Score Punkte, den Prognose-Index PI nach Christensen und sTNF-R75, sowie folgende weitere Parameter bei nach 6 und 15 Monaten lebenden und verstorbenen Patienten mittels Mann-Whitney-U Test für unabhängige Stichproben verglichen: Natrium, Kreatinin, Albumin, Bilirubin, INR, CRP, Alkalische Phosphatase,  $\beta_2$  – Mikroglobulin, Cystatin C, sTNF-R55, Zeit des Zahlenverbindungstests, Zahl der Aszitesepisoden und Zahl der gastrointestinalen Blutungen.

Mit Hilfe von Kaplan-Meier Kurven nach Kaplan und Meier wurde das Überleben der 92 Patienten bis zu dem aktuellen Beobachtungszeitpunkt dargestellt (Kaplan und Meier, 1958). Alle Patienten wurden mindestens 15 Monate beobachtet. Zensiert wurden Patienten, die noch keine 24 Monate unter Beobachtung standen oder im Zeitraum zwischen 6 und 15 Monaten transplantiert wurden.

Um den Child-Pugh-Score mit dem MELD- und Christensen-Score, sowie mit den Serumwerten des löslichen TNF Rezeptors sTNF-R75 in Hinblick auf die Mortalitätsprognose zu untersuchen, wurden Receiver-Operating-Characteristic (ROC) – Analysen durchgeführt (Hanley und McNeil, 1983).

Um herauszufinden, welche Parameter signifikant unabhängig mit dem 6- und 15-Monats-Überleben unserer Patienten zusammenhängen, wurden die Einzelparameter des MELD-Scores, also Kreatinin, INR und Bilirubin, sowie sTNF-R75 in eine multivariate logistische Regressionsanalyse eingeschlossen.

Im Rahmen dieser Analyse wurden zunächst die entsprechenden Parameter in einer univariaten logistischen Regressionsanalyse auf ein Signifikanzniveau von  $p < 0,1$  geprüft und anschließend einer multivariaten logistischen Regressionsanalyse auf einem Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  unterzogen.

Schließlich wurden sämtliche Einzelparameter, sowie die Prognoseparameter sTNF-R75, Child-Pugh-Score, MELD-Score und Christensen-Score auch im Hinblick auf die Genese (Alkoholzirrhose oder andere Genese) mittels nonparametrischer Varianzanalyse nach Kruskal-Wallis miteinander verglichen. Analog zu den vorhergegangenen Analysen wurden im Falle von signifikanten Ergebnissen die einzelnen Gruppen anhand des nichtparametrischen Mann-Whitney-U Tests verglichen. Es wurde ebenfalls untersucht, wie gut die Mortalitätsprognose des MELD-Scores und des löslichen TNF-Rezeptors sTNF-R75 in diesen zwei Genesekategorien ist. Diese Untersuchungen wurden entsprechend den Mortalitätsuntersuchungen des Gesamtkollektivs ebenfalls mit Hilfe von ROC-Analysen durchgeführt.

## Ergebnisse

### *Patienten*

Es wurden 92 Patienten mit Leberzirrhose unterschiedlicher Genese ohne akute Infektionen von Dezember 2000 bis November 2002 in die Studie eingeschlossen. Die Beobachtungszeit betrug für alle Patienten mindestens 15 Monate. Von den 92 Patienten sind fünf Patienten nach Ablauf der ersten 6 Monate transplantiert worden. Tabelle 1 zeigt die demographischen Daten der 92 untersuchten Patienten.

**Tabelle 1**

Demographische Daten von 92 Patienten mit Leberzirrhose

	<b>Child A</b> <b>n = 18</b>	<b>Child B</b> <b>n = 36</b>	<b>Child C</b> <b>n = 38</b>	<b>Gesamtkollektiv</b> <b>n = 92</b>
<b>Alter [Jahre]</b>	51 (45 – 57)	59 (56 – 63)	53 (49 – 57)	55 (53 – 57)
<b>Gewicht [kg]</b>	73 (67 – 79)	80 (73 – 87)	74 (69 – 79)	76 (73 – 80)
<b>Geschlecht</b> <b>[m/w]</b>	12/6	29/7	20/18	61/31

Dargestellt sind Mittelwert und 95% Konfidenzintervall. <sup>A</sup> = Child A und Child B signifikant unterschiedlich; <sup>B</sup> = Child A und Child C signifikant unterschiedlich; <sup>C</sup> = Child B und Child C signifikant unterschiedlich; andernfalls keine signifikanten Unterschiede

Die Ätiologie der Leberzirrhose im Gesamtkollektiv von 92 Patienten ist, wie in Tabelle 2 dargestellt, verteilt.

**Tabelle 2**

Verteilung der Atiologie der Leberzirrhose bei 92 in die Studie eingeschlossenen Patienten

<b>Genese</b>	<b>absolute Fallzahl n</b>
<b>alkoholtoxisch</b>	<b>55</b>
<b>entzündlich</b>	<b>18</b>
Hepatitis B	6
Hepatitis C	8
Autoimmunhepatitis	4
<b>metabolisch</b>	<b>6</b>
$\alpha$ -1-Antitrypsinmangel	2
Morbus Wilson	2
Hämochromatose	2
<b>Cholestatisch</b>	<b>2</b>
Primär Sklerosierende Cholangitis	1
Primär Biliäre Zirrhose	1
<b>Kongenital</b>	<b>1</b>
<b>Kryptogen</b>	<b>10</b>
<b>Summe</b>	<b>92</b>

Im Fall von 11 Patienten konnte kein 24-Stunden-Urin gesammelt und damit keine Kreatinin-Clearance berechnet werden. Um sicherzustellen, dass sich die 11 Patienten ohne Sammelurin nicht signifikant von den übrigen 81 Patienten unterscheiden, wurden die untersuchten Parameter beider Gruppen untereinander verglichen. Es konnte gezeigt werden, dass die 11 Patienten, bei denen kein Sammelurin gewonnen werden konnte, sich in allen untersuchten Parametern nicht signifikant von den 81 Patienten mit Sammelurin unterscheiden.

Alle Vergleiche zwischen der berechneten Kreatinin-Clearance und anderen Parametern wurden also an 81 Patienten durchgeführt. An entsprechender Stelle der Ergebnis-Präsentation wird auf diesen Umstand hingewiesen.



### **Ergebnisse der Querschnittskohortenstudie**

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Querschnittskohortenstudie dargestellt. Dafür werden zunächst die Verteilung der Patienten nach der Child-Pugh-Klassifikation und die absolute Häufigkeit der Child-Pugh-Score Punkte im untersuchten Kollektiv dargestellt.

Tabelle 3 gibt die Verteilung der Patienten nach der Child-Pugh-Klassifikation wieder.

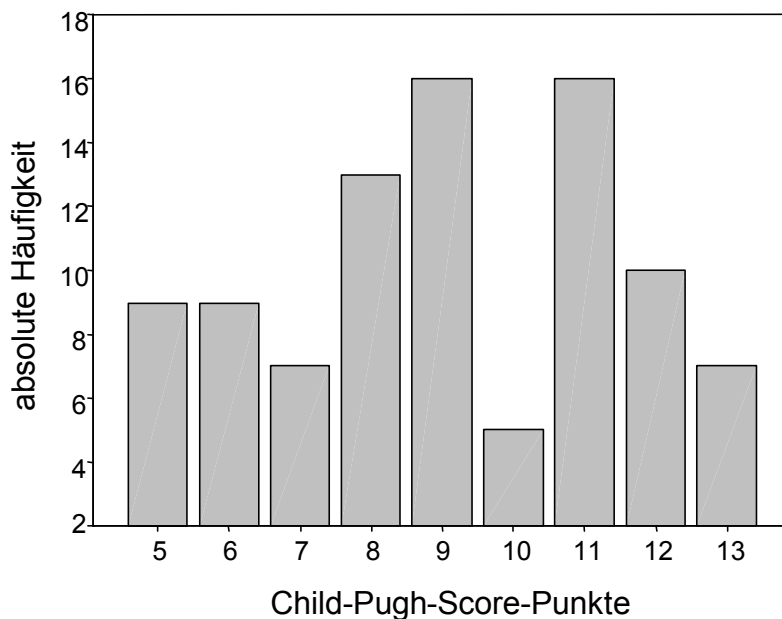
**Tabelle 3**

Verteilung der Patienten nach der Child-Pugh-Klassifikation

	<b>Child A</b>	<b>Child B</b>	<b>Child C</b>
<b>Häufigkeit</b>	18 (19,6%)	36 (39,1%)	38 (41,3%)

Absolute Anzahl mit Prozentzahl in Klammern.

In Abbildung 1 wird zusätzlich zu Tabelle 3 die Verteilung der Patienten nach den einzelnen Child-Pugh-Score Punkten aufgetragen.



**Abbildung 1** Absolute Häufigkeit der Child-Pugh-Score Punkte bei n = 92 Patienten

### Verteilung der Parameter in Abhängigkeit der Child-Pugh-Klassifikation

In Tabelle 4 sind die Entzündungsparameter, die löslichen TNF-Rezeptoren und wichtige Serumparameter in Abhängigkeit von der Child-Pugh-Klassifikation bei allen 92 Patienten dargestellt.

**Tabelle 4**

Serumkonzentrationen der bestimmten Entzündungsparameter und löslichen TNF-Rezeptoren, sowie ausgewählte Serumparameter der 92 Patienten in Abhängigkeit von der Child-Pugh-Klassifikation

	<b>Child A n = 18</b>	<b>Child B n = 36</b>	<b>Child C n = 38</b>
<b>Leukozyten [10<sup>3</sup> mm<sup>-3</sup>]</b>	5,5 (4,1 – 6,9)	6,5 (5,3 – 7,7)	8,3 (6,4 – 10,2)
<b>CRP [mg/l]</b>	7,6 (4,0 – 11,1) <sup>B</sup>	15,7 (10,7 – 20,6)	25,7 (17,5 – 34,0) <sup>B</sup>
<b>IL-6 [pg/ml]</b>	11,5 (0,5 – 22,4)	26,2 (7,8 – 44,7)	37,2 (10,4 – 64,1)
<b>sTNF-R55 [ng/ml]</b>	2,8 (2,5 – 3,2) <sup>A, B</sup>	4,8 (3,8 – 5,8) <sup>A</sup>	6,2 (4,8 – 7,5) <sup>B</sup>
<b>sTNF-R75 [ng/ml]</b>	8,9 (5,9 – 11,9) <sup>A, B</sup>	16,0 (12,4 – 19,7) <sup>A</sup>	20,6 (16,5 – 24,8) <sup>B</sup>
<b>Cystatin C [mg/l]</b>	1,05 (0,97 – 1,1) <sup>A, B</sup>	1,63 (1,33 – 1,92) <sup>A</sup>	1,69 (1,41 – 1,98) <sup>B</sup>
<b>Natrium [mmol/l]</b>	139 (137 – 140) <sup>A, B</sup>	133 (129 – 136) <sup>A</sup>	134 (132 – 136) <sup>B</sup>
<b>Kreatinin [mg/dl]</b>	0,9 (0,8 – 1,0) <sup>A, B</sup>	1,6 (1,1 – 2,0) <sup>A</sup>	1,6 (1,1 – 2,0) <sup>B</sup>
<b>Alkalische Phosphatase [U/l]</b>	168 (100 – 236)	204 (139 – 270)	233 (191 – 276)
<b>β<sub>2</sub>-Mikroglobulin [g/l]</b>	2,1 (1,8 – 2,4) <sup>A, B</sup>	3,5 (2,9 – 4,1) <sup>A</sup>	3,9 (3,1 – 4,7) <sup>B</sup>

Dargestellt sind Mittelwert und 95% Konfidenzintervall. <sup>A</sup> = Child A und Child B signifikant unterschiedlich; <sup>B</sup> = Child A und Child C signifikant unterschiedlich; <sup>C</sup> = Child B und Child C signifikant unterschiedlich; andernfalls keine signifikanten Unterschiede

Die folgenden Angaben beziehen sich auf 81 Patienten für die der 24-Stunden-Urin gesammelt und die Kreatinin-Clearance berechnet werden konnte. Die Serumwerte des Kreatinins von 81 Patienten variieren auf einer Skala von 0,5 bis 7,7 mg/dl; der Mittelwert beträgt 1,41 mg/dl [CI 1,1 – 1,7]. Die berechnete Kreatinin-Clearance beträgt bei einem Mittelwert von 65,6 ml [CI 56,0 – 75,2] im Minimum 3,4 und im Maximum 203,9 ml.

Tabelle 5 gibt analog zu Tabelle 4 die Verteilung dieser Parameter in Abhängigkeit von der Child-Pugh-Klassifikation wieder.

**Tabelle 5**

Kreatinin-Serumkonzentrationen und Kreatinin-Clearance von 81 Patienten in Abhängigkeit von der Child-Pugh-Klassifikation.

	<b>Child A</b> <b>n = 16</b>	<b>Child B</b> <b>n = 32</b>	<b>Child C</b> <b>n = 33</b>
<b>Kreatinin [mg/dl]</b>	0,8 (0,80 – 1,0) <sup>A</sup>	1,5 (1,0 – 2,0) <sup>A</sup>	1,6 (1,1 – 2,1)
<b>Kreatinin-Clearance [ml]</b>	84,2 (57,4 – 111,1)	62,4 (48,3 – 76,5)	59,6 (44,3 – 74,9)

Dargestellt sind Mittelwert und 95% Konfidenzintervall. <sup>A</sup> = Child A und Child B signifikant unterschiedlich; <sup>B</sup> = Child A und Child C signifikant unterschiedlich; <sup>C</sup> = Child B und Child C signifikant unterschiedlich; andernfalls keine signifikanten Unterschiede.

### **Entzündungsparameter, lösliche TNF-Rezeptoren, Cystatin C und Nierenfunktionsparameter in Abhängigkeit der Child-Pugh-Klassifikation**

Wie in Tabelle 4 aufgezeigt, sind sowohl die Serumkonzentration des C-Reaktiven Proteins, als auch die Serumkonzentrationen der löslichen TNF-Rezeptoren sTNF-R55 und sTNF-R75 signifikant höher in Child C als in Child A Patienten. Einzig sTNF-R55 und sTNF-R75 sind bei Patienten mit Leberzirrhose im Stadium Child A und Child B signifikant unterschiedlich.

Da in unserem Kollektiv eine hohe Anzahl an Patienten eine Serumkonzentration von IL-6 unterhalb der unteren Nachweisgrenze aufwies, liegt der Median in den einzelnen Child-Pugh-Gruppen nahe 0 und die Unterschiede der Mediane im Kruskal-Wallis-Test zeigen keine Signifikanzen. Die Mittelwerte der Serumkonzentrationen von IL-6 sind in Child C jedoch deutlich höher als in Child A (siehe Tabelle 4).

Die Leukozytenzahl zeigte keine signifikanten Unterschiede in den Gruppen der Child-Pugh-Klassifikation.

### Bivariate Korrelationsanalyse

Um herauszufinden ob die Parameter sTNF-R55, sTNF-R75, Cystatin C, Kreatinin und Kreatinin-Clearance miteinander korrelieren, wurde eine bivariate Korrelationsanalyse durchgeführt. Bivariate Korrelationen zwischen den oben genannten Messparametern und den Prognosescores sind in Tabelle 6 dargestellt. Auch diese Analyse wurde auf 81 Patienten mit komplettem Datensatz beschränkt.

**Tabelle 6**

Bivariate Korrelationen zwischen Serumkonzentrationen von sTNF-R55, sTNF-R75, Cystatin C, Bilirubin, Kreatinin und Kreatinin-Clearance

	<b>sTNF-R55</b>	<b>sTNF-R75</b>	<b>Cystatin C</b>	<b>Bilirubin</b>	<b>Kreatinin</b>
<b>sTNF-R75</b>	s = 0,879 (s.)				
<b>Cystatin C</b>	s = 0,745 (s.)	s = 0,670 (s.)			
<b>Bilirubin</b>	s = 0,391 (s.)	s = 0,475 (s.)	s = 0,163 (n.s.)		
<b>Kreatinin</b>	s = 0,626 (s.)	s = 0,589 (s.)	s = 0,749 (s.)	s = 0,096 (n.s.)	
<b>Kreatinin-Clearance</b>	s = -0,444 (s.)	s = -0,552 (s.)	s = -0,628 (s.)	s = -0,239 (n.s.)	s = -0,607 (s.)

Ausgewertet wurden n = 81 Patienten bei denen 24-Stunden-Urin gesammelt wurde. Der dargestellte Korrelationskoeffizient s entspricht dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman für nicht normal verteilte Variablen. Signifikanzen in Klammern (s. = signifikant; n.s. = nicht signifikant)

### Darstellung der Prognosescores in Abhängigkeit der Child-Pugh-Klassifikation

Tabelle 7 zeigt den MELD-Score, Christensen-Score sowie die Serumkonzentration des löslichen TNF-Rezeptors sTNF-R75 in Abhängigkeit von der Child-Pugh-Klassifikation bei n = 92 Patienten.

**Tabelle 7**

Prognosescores der 92 Patienten in Abhängigkeit von der Child-Pugh-Klassifikation

	<b>Child A</b> <b>n = 16</b>	<b>Child B</b> <b>n = 32</b>	<b>Child C</b> <b>n = 33</b>
<b>MELD</b>	8 (6 – 3) <sup>B</sup>	12 (10– 14) <sup>C</sup>	18 (16 – 21) <sup>B,C</sup>
<b>Christensen (PI)*</b>	-1,6 (-2,2 – -1,02) <sup>A,B</sup>	-0,5 (-0,9 – -0,1) <sup>A,C</sup>	0,2 (-0,2 – 0,5) <sup>B,C</sup>
<b>sTNF-R75 [ng/ml]</b>	8,9 (5,9 – 11,9) <sup>A,B</sup>	16,0 (12,4 – 19,7) <sup>A</sup>	20,6 (16,5 – 24,8) <sup>B</sup>

Dargestellt sind Mittelwert und 95% Konfidenzintervall; \*PI = Prognoseindex. <sup>A</sup> = Child A und Child B signifikant unterschiedlich; <sup>B</sup> = Child A und Child C signifikant unterschiedlich; <sup>C</sup> = Child B und Child C signifikant unterschiedlich; andernfalls keine signifikanten Unterschiede

### **Cystatin C und Kreatinin als Nierenfunktionsparameter bei Patienten mit Leberzirrhose in Abhängigkeit der Kreatinin-Clearance**

Aufgrund der Tatsache, dass Cystatin C und Kreatinin einerseits untereinander und andererseits mit der Kreatinin-Clearance signifikant korrelieren (Tabelle 6) und die Cystatin C Serumkonzentrationen im Gegensatz zu Kreatininserumkonzentrationen bei Patienten im Stadium Child C und Child B signifikant höher sind als bei Patienten im Stadium Child A (Tabelle 4), erfolgt an dieser Stelle ein direkter Vergleich dieser Parameter im Hinblick auf ihre Beziehung zur Kreatinin-Clearance.

Zu diesem Zweck wurde das Kollektiv von 81 Patienten mit komplettem Datensatz in zwei Subgruppen eingeteilt: Kreatinin-Clearance > 70 ml/min, n = 33; Kreatinin-Clearance < 70 ml/min, n = 48.

Tabelle 8 zeigt die unterschiedlichen Serumkonzentrationen von Cystatin C und Kreatinin bei Patienten mit einer Kreatinin-Clearance von größer 70 ml/min und kleiner 70 ml/min im direkten Vergleich.

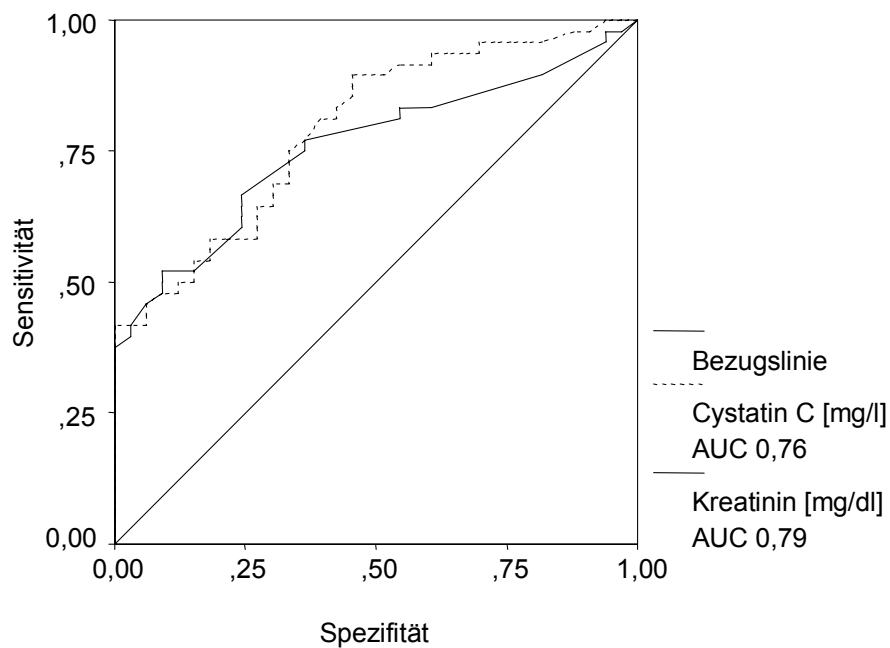
**Tabelle 8**

Serumkonzentrationen von Cystatin C und Kreatinin bei 81 Patienten mit einer Kreatinin-Clearance von > 70 ml/min und < 70 ml/min

	<b>Kreatinin-Clearance &gt; 70 ml/min n = 33</b>	<b>Kreatinin-Clearance &lt; 70 ml/min n = 48</b>	<b>p</b>
<b>Kreatinin [mg/dl]</b>	0,92 (0,84 – 1,00)	1,75 (1,31 – 2,19)	s
<b>Cystatin C [mg/l]</b>	1,11 (1,01 – 1,21)	1,83 (1,54 – 2,11)	s

Dargestellt sind Mittelwerte und 95% Konfidenzintervall. Die Signifikanz p ist mit Hilfe des Mann-Whitney-U Tests für unabhängige Stichproben errechnet worden; s = signifikant, n.s. = nicht signifikant

Um das diagnostische Potential von Cystatin C und Kreatinin zur Erkennung von Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion und damit einer Kreatinin-Clearance von  $< 70$  ml/min zu untersuchen, wurde eine ROC-Analyse durchgeführt. Dabei konnten wir feststellen, dass die AUC (Area under the curve) des Cystatin C ( $AUC_{\text{Cystatin C}} = 0,79$ ; CI: 0,70 – 0,89) größer ist als die des Kreatinins ( $AUC_{\text{Kreatinin}} = 0,76$ ; CI: 0,65 – 0,86). Beide Kurven werden in Abbildung 2 gezeigt.



**Abbildung 2** ROC-Analysen der Nierenfunktionsparameter Cystatin C und Kreatinin für das Erkennen von Patienten mit einer Kreatinin-Clearance von kleiner 70 ml/min. Untersucht wurden 81 Patienten mit komplettem Datensatz.



### **Prospektive Kohortenstudie**

Alle 92 in die Studie eingeschlossenen Patienten wurden mindestens 15 Monate nachbeobachtet. Für 22 Patienten betrug die Beobachtungszeit zum Auswertungszeitpunkt 24 Monate. Die prognostische Wertigkeit der Einzelparameter und Prognosescores werden im Folgenden im Hinblick auf das Überleben von 6 und 15 Monaten verglichen.

27 Patienten (30% der 92 Patienten; Child A 11%, Child B 28%, Child C 36%) sind vor Ende der ersten 6 Monate und 40 Patienten (44% der 92 Patienten; Child A 22%, Child B 42%, Child C 53%) vor Ende der ersten 15 Monate verstorben. Vier Patienten sind zwischen 6 und 15 Monaten, ein weiterer Patient zwischen 15 und 24 Monaten der Beobachtungszeit transplantiert worden. Bei allen folgenden Untersuchungen des 15-monatigen Überlebens werden die vier transplantierten Patienten zensiert und damit n = 88 Patienten ausgewertet.

Dargestellt wird an dieser Stelle zunächst eine Auflistung der Todesursachen und deren absoluter Häufigkeiten bei n = 34 (Tabelle 9). Im Falle von 6 Patienten konnte post mortem die Todesursache nicht näher eingegrenzt werden.

**Tabelle 9**

Todesursachen und deren absolute Häufigkeiten bei n = 34 verstorbenen Patienten

<b>Todesursache</b>	<b>Anzahl der verstorbenen Patienten</b>	
dekompensierte Leberzirrhose	8 (23,5%)	91,2%
Coma hepaticum	8 (23,5%)	
Sepsis	7 (20,6%)	
Hepatorenales Syndrom	4 (11,8%)	
Lebertransplantation	2 (5,9%)	
Gastrointestinale Blutung	2 (5,9%)	
Extrahepatische Todesursachen (Pneumonie, kardiale Dekompensation)	3 (8,8%)	
<b>Summe</b>	<b>34 (100%)</b>	

Dargestellt sind die Todesursachen und deren absolute Häufigkeiten von n = 34 Patienten. Bei 6 Patienten konnten die Todesursachen nicht herausgefunden werden.

### **Vergleich der Prognoseparameter für lebende und im Beobachtungszeitraum von 6 und 15 Monaten verstorbene Patienten**

Im Folgenden werden zunächst die erhobenen Einzelparameter für die Gruppe der Überlebenden und nach 6 und 15 Monaten verstorbenen Patienten dargestellt.

Tabelle 10 und Tabelle 11 zeigen diese Ergebnisse.

**Tabelle 10**

Parameter, die signifikant zwischen lebenden und im Beobachtungszeitraum von 6 Monaten verstorbenen Patienten unterscheiden

	<b>lebend</b> <b>n = 65</b>	<b>verstorben</b> <b>n = 27</b>	<b>p</b>
<b>Kreatinin [mg/dl]</b>	1,24 (0,99 – 1,48)	1,9 (1,29 – 2,51)	s
<b>Kreatinin-Clearance [ml] *</b>	76,14 (64,40 – 87,89)	43,25 (29,01 – 57,48)	s
<b>Natrium [mmol/l]</b>	135 (133 – 137)	133 (130 – 135)	s
<b>Albumin [g/l]</b>	31,59 (29,66 – 33,51)	26,54 (24,34 – 28,75)	s
<b>Bilirubin [mg/dl]</b>	2,63 (1,73 – 3,53)	5,41 (2,89 – 7,92)	s
<b>INR</b>	1,28 (1,23 – 1,34)	1,44 (1,33 – 1,54)	s
<b>CRP [mg/l]</b>	15,19 (10,97 – 19,40)	25,61 (15,9 – 35,33)	s
<b>Alkalische Phosphatase [U/l]</b>	179,32 (150,62 – 208,03)	282,07 (195,9 – 368,25)	s
<b><math>\beta_2</math>-Mikroglobulin [g/l]</b>	2,9 (2,5 – 3,3)	4,5 (3,5 – 5,6)	s
<b>Cystatin C [mg/l]</b>	1,4 (1,2 – 1,5)	1,9 (1,5 – 2,4)	s
<b>sTNF-R55 [ng/ml]</b>	4,26 (3,54 – 4,08)	6,71 (5,04 – 8,37)	s
<b>Zahlenverbindungs- test [Sekunden]</b>	69,62 (60,56 – 78,7)	102,2 (76,64 – 127,81)	s
<b>Aszitesepisodes</b>	1 (1 – 2)	2 (2 – 3)	s
<b>Gastrointestinale Blutungsepisodes</b>	2 (1 – 2)	1 (0 – 2)	s

Dargestellt sind Mittelwerte und 95% Konfidenzintervall. Die Signifikanz p ist mit Hilfe des Mann-Whitney-U Tests für unabhängige Stichproben errechnet worden; s = signifikant, n.s. = nicht signifikant.

\* Die Untersuchungen der Kreatinin-Clearance erfolgten an 81 Patienten mit komplettem Datensatz.

**Tabelle 11**

Parameter, die signifikant zwischen lebenden und im Beobachtungszeitraum von 15 Monaten verstorbenen Patienten unterscheiden

	<b>lebend</b> <b>n = 48</b>	<b>verstorben</b> <b>n = 40</b>	<b>p</b>
<b>Kreatinin [mg/dl]</b>	1,19 (0,90 – 1,49)	1,76 (1,32 – 2,20)	s
<b>Kreatinin-Clearance [ml] *</b>	79,83 (65,32 – 94,34)	46,97 (35,63 – 58,31)	s
<b>Natrium [mmol/l]</b>	136 (133 – 138)	133 (131 – 135)	s
<b>Albumin [g/l]</b>	31,86 (29,41 – 34,32)	28,37 (26,42 – 30,32)	s
<b>Bilirubin [mg/dl]</b>	2,04 (1,25 – 2,82)	4,98 (3,00 – 6,95)	s
<b>INR</b>	1,24 (1,19 – 1,28)	1,43 (1,34 – 1,52)	s
<b>CRP [mg/l]</b>	13,70 (8,68 – 18,72)	23,09 (16,23 – 29,94)	s
<b>Alkalische Phosphatase [U/l]</b>	169,60 (137,54 – 201,66)	249,78 (187,90 – 311,65)	s
<b>β<sub>2</sub>-Mikroglobulin [g/l]</b>	2,72 (2,31 – 3,13)	4,24 (3,46 – 5,02)	s
<b>Cystatin C [mg/l]</b>	1,3 (1,2 – 1,5)	1,8 (1,50 – 2,1)	s
<b>sTNF-R55 [ng/ml]</b>	4,16 (3,23 – 5,10)	5,91 (4,71 – 7,10)	s
<b>Zahlenverbindungs-test [Sekunden]</b>	68 (59 – 76)	95 (74 – 115)	s
<b>Aszitesepisoden</b>	1(1 – 2)	2 (2 – 3)	s
<b>Gastrointestinale Blutungsepisoden</b>	2 (1 – 2)	1 (0 – 2)	n.s.

Dargestellt sind Mittelwerte und 95% Konfidenzintervall. Die Signifikanz p ist mit Hilfe des Mann-Whitney-U Tests für unabhängige Stichproben errechnet worden. Die nach 6 Monaten transplantierten Patienten sind in dieser Analyse zensiert.

\* Die Untersuchungen der Kreatinin-Clearance erfolgten an 78 nicht transplantierten Patienten mit komplettem Datensatz.

Analog zu diesen Untersuchungen wurden auch die Child-Pugh-, MELD- und Christensen-Scores und der lösliche TNF-Rezeptor sTNF-R75 auf die Fragestellung hin untersucht, ob nach 6 und 15 Monaten Beobachtungszeit signifikante Unterschiede zwischen in der Beobachtungszeit überlebenden und verstorbenen Patienten bestehen. Die Ergebnisse dieser Analysen sind in Tabelle 12 und Tabelle 13 zusammengefasst.

**Tabelle 12**

Child-Pugh-, MELD- und Christensen-Score-Werte, sowie Serumkonzentrationen von sTNF-R75 bei nach 6 Monaten Beobachtungszeit lebenden und verstorbenen Patienten

	<b>lebend</b> <b>n = 65</b>	<b>verstorben</b> <b>n = 27</b>	<b>p</b>
<b>Child-Score</b>	8 (8 – 9)	10 (10 – 11)	s
<b>MELD-Score</b>	12 (10 – 13)	19 (16 – 22)	s
<b>Christensen-Score</b>	-0,6 (-0,9 – -0,4)	0,06 (-0,4 – 0,5)	s
<b>sTNF-R75</b> <b>[ng/ml]</b>	13,85 (11,3 – 16,4)	22,96 (18,05 – 27,87)	s

Dargestellt sind Mittelwerte und 95% Konfidenzintervalle. Die Signifikanz p ist mit Hilfe des Mann-Whitney-U Tests für unabhängige Stichproben errechnet worden; s = signifikant; n.s. = nicht signifikant.

**Tabelle 13**

Child-Pugh-, MELD- und Christensen-Score-Werte, sowie Serumkonzentrationen von sTNF-R75 bei nach 15 Monaten Beobachtungszeit lebenden und verstorbenen

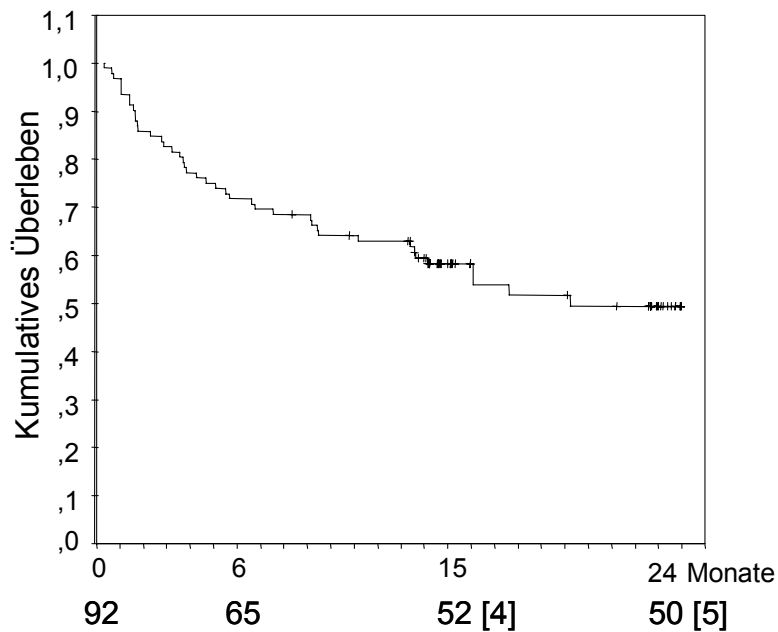
Patienten

	<b>lebend</b> <b>n = 48</b>	<b>verstorben</b> <b>n = 40</b>	<b>p</b>
<b>Child-Score</b>	8 (8 – 9)	10 (9 – 11)	s
<b>MELD-Score</b>	10 (9 – 12)	18 (15 – 20)	s
<b>Christensen-Score</b>	-0,7 (-1,0 – -0,3)	0,05 (-1,7 – 1,8)	n.s.
<b>sTNF-R75</b> <b>[ng/ml]</b>	13,46 (10,18 – 16,74)	20,28 (16,61 – 23,95)	s

Dargestellt sind Mittelwerte und 95% Konfidenzintervall. Die Signifikanz p ist mit Hilfe des Mann-Whitney-U Tests für unabhängige Stichproben errechnet worden; s = signifikant; n.s. = nicht signifikant.

### Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtkollektivs

Um einen graphischen Überblick zu bekommen, wie viele Patienten zu den angegebenen Zeitpunkten noch lebten, wird an dieser Stelle eine Kaplan-Meier-Überlebenskurve für das Gesamtkollektiv gezeigt (Abbildung 3).

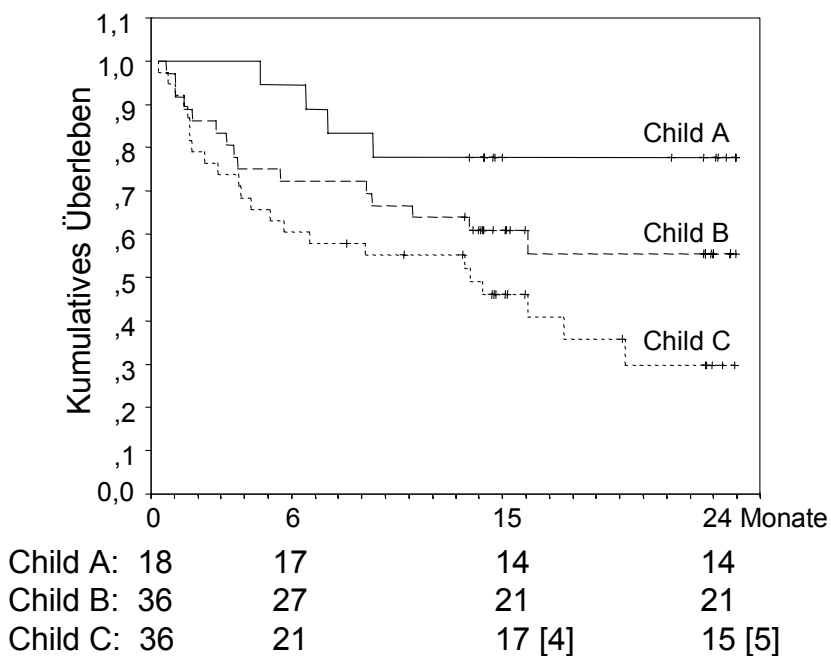


**Abbildung 3** Kaplan-Meier-Kurve und Überlebenstabelle des Gesamtkollektivs. Alle Patienten wurden mindestens 15 Monate beobachtet. Zensiert und mit einem + gekennzeichnet sind Patienten, die noch keine 24 Monate beobachtet wurden oder im Zeitraum zwischen 6 und 15 Monaten transplantiert worden sind. Die Zahl der transplantierten Patienten ist in der Tabelle in eckigen Klammern angegeben.

## Kumulatives Überleben in Abhängigkeit der untersuchten Prognosescores

### 1. Kaplan-Meier-Überlebensanalyse in Abhängigkeit der Child-Pugh-Klassifikation

Um zu sehen, wie lange die Patienten der verschiedenen Child-Pugh-Kategorien im Vergleich zueinander überleben, wurde eine Kaplan-Meier-Analyse dieser Untergruppen durchgeführt. Abbildung 4 zeigt die entsprechenden Kurven.

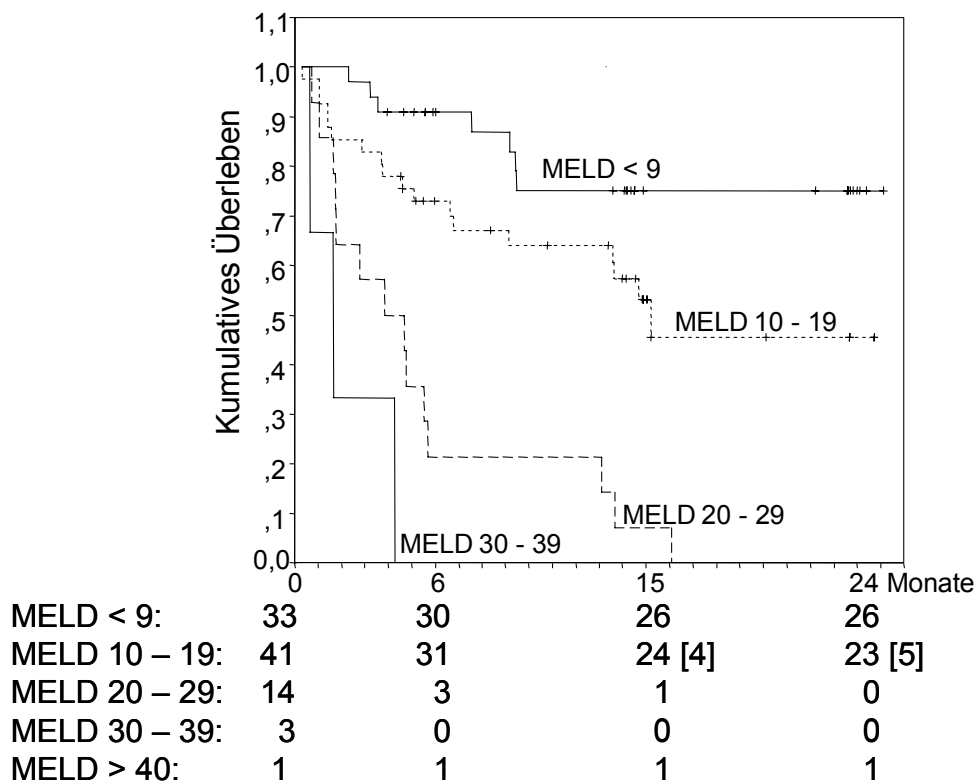


**Abbildung 4** Kaplan-Meier-Kurve und Überlebenstabelle in Abhängigkeit von der Child-Pugh-Klassifikation. Alle Patienten wurden mindestens 15 Monate beobachtet. Zensiert und mit einem + gekennzeichnet sind Patienten, die noch keine 24 Monate beobachtet wurden oder im Zeitraum zwischen 6 und 15 Monaten transplantiert worden sind. Die Zahl der transplantierten Patienten ist in der Tabelle in eckigen Klammern angegeben.



## 2. Kaplan-Meier-Überlebensanalyse in Abhängigkeit von MELD-Score- Ergebnissen

Um die Verteilung der MELD-Punkte beurteilen zu können, wurde die von Kamath und Mitarbeitern entwickelte Einteilung übernommen (Kamath et al., 2001). Abbildung 5 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven in Abhängigkeit vom MELD-Score. Da in unserem Kollektiv nur ein Patient einen MELD-Score von über 40 aufwies, wird die entsprechende Kurve hier nicht gezeigt.

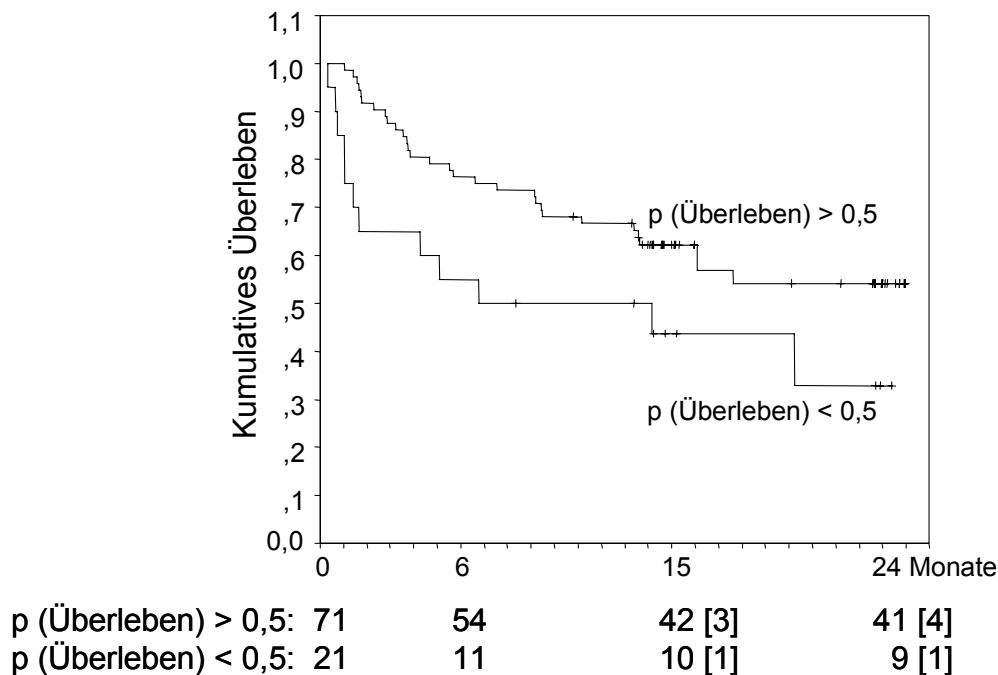


**Abbildung 5** Kaplan-Meier-Kurve und Überlebenstabelle in Abhängigkeit vom MELD-Score. Alle Patienten wurden mindestens 15 Monate beobachtet. Zensiert und mit einem + gekennzeichnet sind Patienten, die noch keine 24 Monate beobachtet wurden oder im Zeitraum zwischen 6 und 15 Monaten transplantiert worden sind. Die Zahl der transplantierten Patienten ist in der Tabelle in eckigen Klammern angegeben. Da der letzten Kategorie nur ein Patient zugeordnet ist, wurde die entsprechende Kurve hier nicht dargestellt.

### 3. Kaplan-Meier-Überlebensanalyse in Abhängigkeit des Christensen-Scores

Der nach Christensen und Mitarbeitern berechnete Prognose-Index PI variiert auf einer Prognose-Index-Skala von -7 bis +3 (Christensen et al., 1997). Das Prognose-Index Minimum liegt in unserem Kollektiv bei -4,3, das Maximum bei 2,3. Die Spannweite beträgt 6,6, der Median -0,3 und die Standardabweichung 1,3.

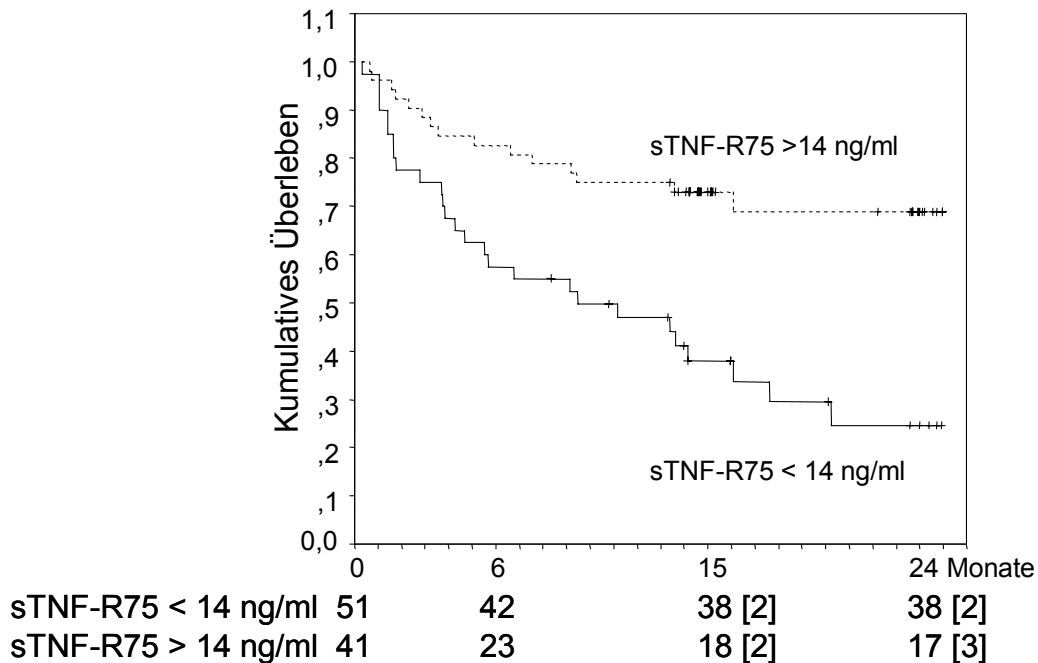
Man kann die Patienten anhand der ebenfalls nach Christensen und Mitarbeitern geschätzten 6-Monats-Überlebenswahrscheinlichkeit in eine Gruppe mit einer 6-Monats-Überlebenswahrscheinlichkeit  $p > 50\%$  und eine Gruppe mit einer Überlebenswahrscheinlichkeit  $p < 50\%$  unterteilen (Christensen et al., 1997). Auf diese Weise können zwei Kaplan-Meier-Überlebensanalysen miteinander verglichen werden. Abbildung 6 zeigt die entsprechenden Kaplan-Meier-Kurven.



**Abbildung 6** Kaplan-Meier-Kurven und Überlebenstabelle für Patienten mit einer 6-monatigen Überlebenswahrscheinlichkeit nach Christensen und Mitarbeitern von  $p < 0,5$  und  $p > 0,5$  (Christensen et al., 1997). Alle Patienten wurden mindestens 15 Monate beobachtet. Zensiert und mit einem + gekennzeichnet sind Patienten, die noch keine 24 Monate beobachtet wurden oder im Zeitraum zwischen 6 und 15 Monaten transplantiert worden sind. Die Zahl der transplantierten Patienten ist in der Tabelle in eckigen Klammern angegeben.

#### 4. Kaplan-Meier-Überlebensanalyse des löslichen TNF-Rezeptors sTNF-R75

Reichel und Mitarbeiter stellten in der Pilotstudie in einer ROC-Analyse einen cut-off Wert von 14 ng/ml für sTNF-R75 fest (Reichel et al., 2000). Unser Kollektiv lässt sich daher in Patienten mit sTNF-R75-Werten größer und kleiner 14 ng/ml aufteilen. Wie die Überlebenskurven dieser beiden Untergruppen aussehen, zeigt Abbildung 7.



**Abbildung 7** Kaplan-Meier-Kurven und Überlebenstabellen für Patienten mit sTNF-R75-Werten größer und kleiner 14 ng/ml. Alle Patienten wurden mindestens 15 Monate beobachtet. Zensiert und mit einem + gekennzeichnet sind Patienten, die noch keine 24 Monate beobachtet wurden oder im Zeitraum zwischen 6 und 15 Monaten transplantiert worden sind. Die Zahl der transplantierten Patienten ist in der Tabelle in eckigen Klammern angegeben.

## ROC-Analysen

### ROC-Vergleich der Prognoseparameter

Um festzustellen, welcher Parameter das 6-monatige und 15-monatige Überleben unserer Patienten am besten voraussagt, wurde von den Child- MELD- und Christensen-Scores, sowie den löslichen TNF-Rezeptoren sTNF-R55 und sTNF-R75 eine Überlebensanalyse in Form von Receiver-Operating-Characteristics (ROC) durchgeführt. Für die Analyse der 15-Monatsprognose wurden die 4 transplantierten Patienten zensiert.

Die Ergebnisse dieser Analysen sind in Tabelle 14 dargestellt.

**Tabelle 14**

Vergleich der Prognoseparameter mit Hilfe von ROC-Analysen für lebende und im Beobachtungszeitraum von 6 und 15 Monaten verstorbene Patienten

Scores	6 Monate n = 92				15 Monate n = 88			
	Cut-off	AUC* [CI**]	Sens.	Spez.	Cut-off	AUC* [CI**]	Sens.	Spez.
<b>Child</b>	9	0,72 0,62 – 0,81	63,0	67,6	8	0,68 0,58 – 0,78	72,5	56,2
<b>MELD</b>	13,9	0,79 0,70 – 0,87	77,8	73,8	13,9	0,79 0,69 – 0,89	70,0	83,3
<b>Christensen</b>	-0,3	0,65 0,55 – 0,75	66,7	60,0	-0,3	0,60 0,49 – 0,71	57,5	62,5
<b>sTNF-R75</b>	12,2	0,74 0,64 – 0,83	81,5	60,0	12,2	0,72 0,61 – 0,81	75,0	66,7
<b>sTNF-R55</b>	4,8	0,72 0,61 – 0,81	63,0	76,9	4,8	0,70 0,59 – 0,80	52,5	81,3

In der Analyse der 15-Monatsprognose wurden die 4 transplantierten Patienten zensiert.

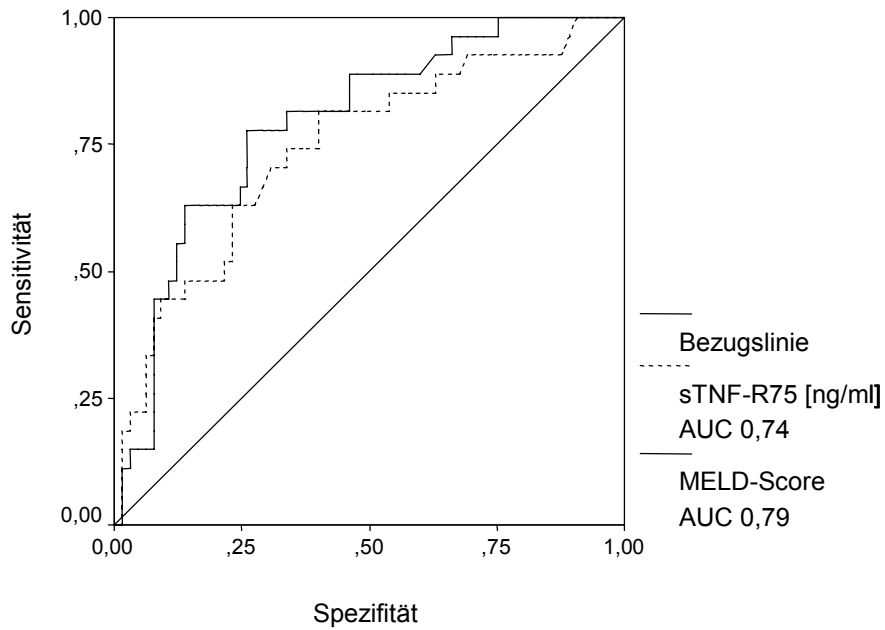
\*AUC = Area under the curve; Fläche unter der Kurve; \*\*CI = 95% - Konfidenzintervall

An den Ergebnissen der ROC Analyse stellt sich heraus, dass sowohl für die Prognose von 6 als auch von 15 Monaten der MELD-Score und der lösliche TNF-Rezeptor sTNF-R75 die höchste mittlere AUC aufweisen. Allerdings ist der Unterschied zu dem Child-Pugh-Score nicht signifikant. Lediglich die AUC des MELD Scores ist in der 15-Monatsanalyse signifikant größer als die des Christensen-Scores. Der MELD-Score schneidet nicht signifikant besser ab als sTNF-R75.

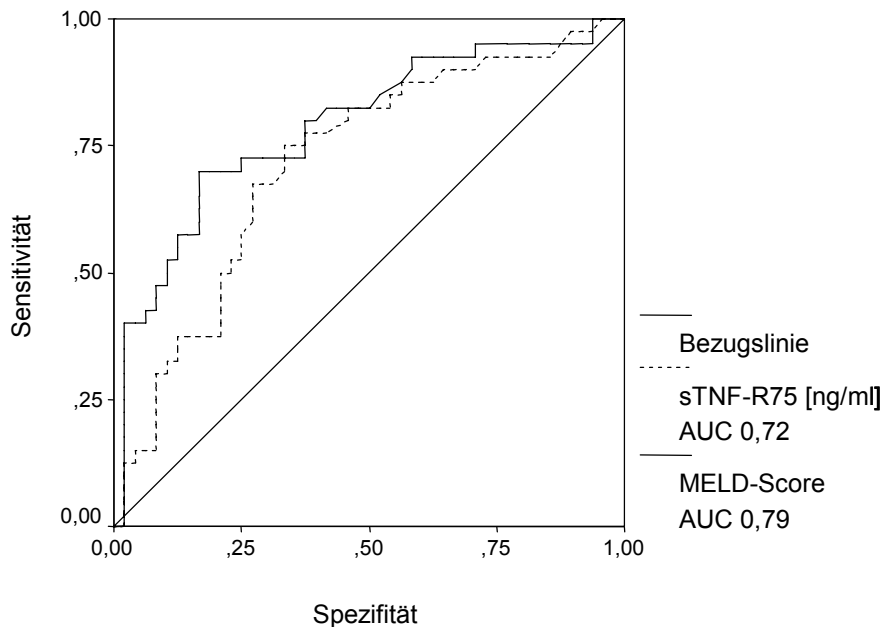
Vergleicht man die AUC der Scores direkt miteinander, so ergeben sich in der 6-Monatsanalyse keine signifikanten Unterschiede. Die Differenz ( $\text{Fläche}_{\text{MELD}} - \text{Fläche}_{\text{Christensen}}$ ) ergibt mit 0,14 die größte Flächendifferenz, ist mit einem Standardfehler von 0,076 [CI -0,011 bis 0,286] und einem Signifikanzniveau von  $p = 0,069$  aber nicht statistisch signifikant.

Ein direkter Vergleich der Parameter bezüglich der 15-Monatsanalyse zeigt dagegen, dass der MELD-Score signifikant besser ist als der Christensen-Score ( $\text{Fläche}_{\text{MELD}} - \text{Fläche}_{\text{Christensen}} = 0,186$ , Standardfehler 0,071, CI [0,047 bis 0,324],  $p = 0,008$ ). Die Flächendifferenz des sTNF-R75 und des Christensen-Scores ist nicht ganz so groß ( $\text{Fläche}_{\text{sTNF-R75}} - \text{Fläche}_{\text{Christensen}} = 0,115$ , Standardfehler von 0,077, CI [-0,035 bis 0,265]) und mit  $p = 0,134$  statistisch nicht signifikant.

Abbildung 8 zeigt die ROC-Kurven des MELD-Scores und des löslichen TNF-Rezeptors sTNF-R75 der 6-Monatsanalyse, Abbildung 9 die entsprechenden Kurven der 15-Monatsanalyse.

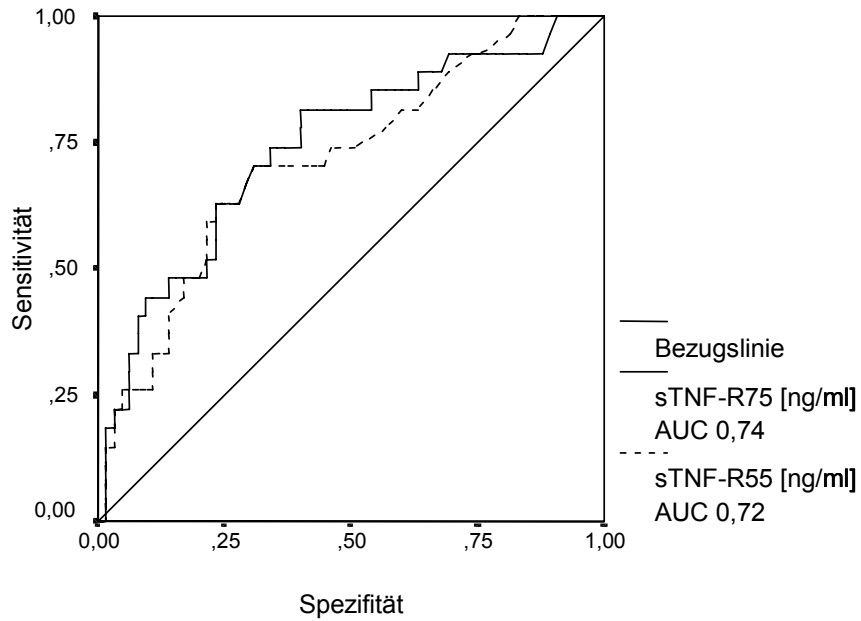


**Abbildung 8** ROC-Analysen des MELD-Scores und des löslichen TNF-Rezeptors sTNF-R75 bezüglich des 6-monatigen Überlebens.



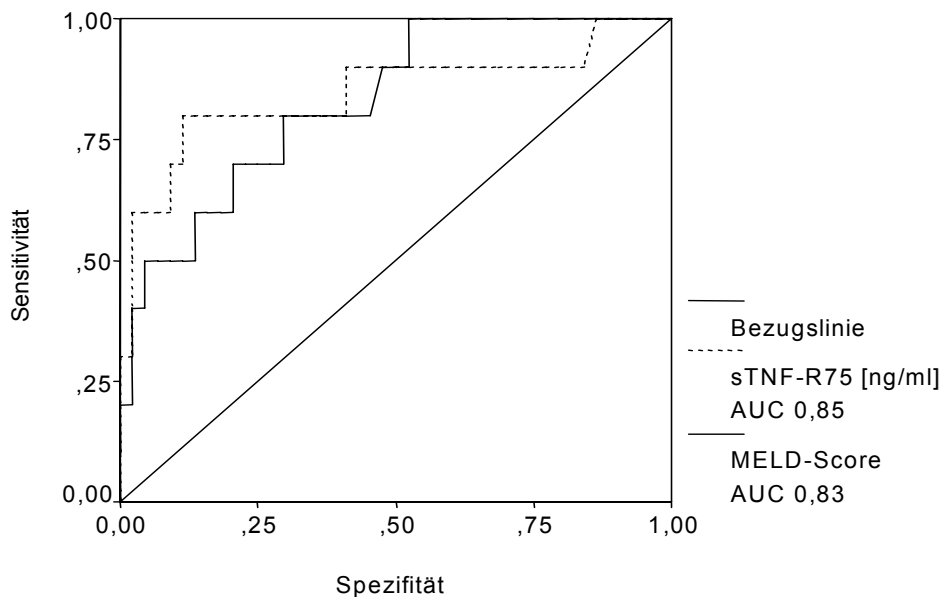
**Abbildung 9** ROC-Analysen des MELD-Scores und des löslichen TNF-Rezeptors sTNF-R75 bezüglich des 15-monatigen Überlebens. Die nach 6 Monaten transplantierten Patienten sind zensiert worden.

An dieser Stelle erfolgt noch einmal der direkte Vergleich der 6-Monats-ROC-Kurven der beiden löslichen TNF-Rezeptoren sTNF-R55 und sTNF-R75. Die entsprechenden Kurven der 15-Monatsanalyse sind nicht dargestellt.



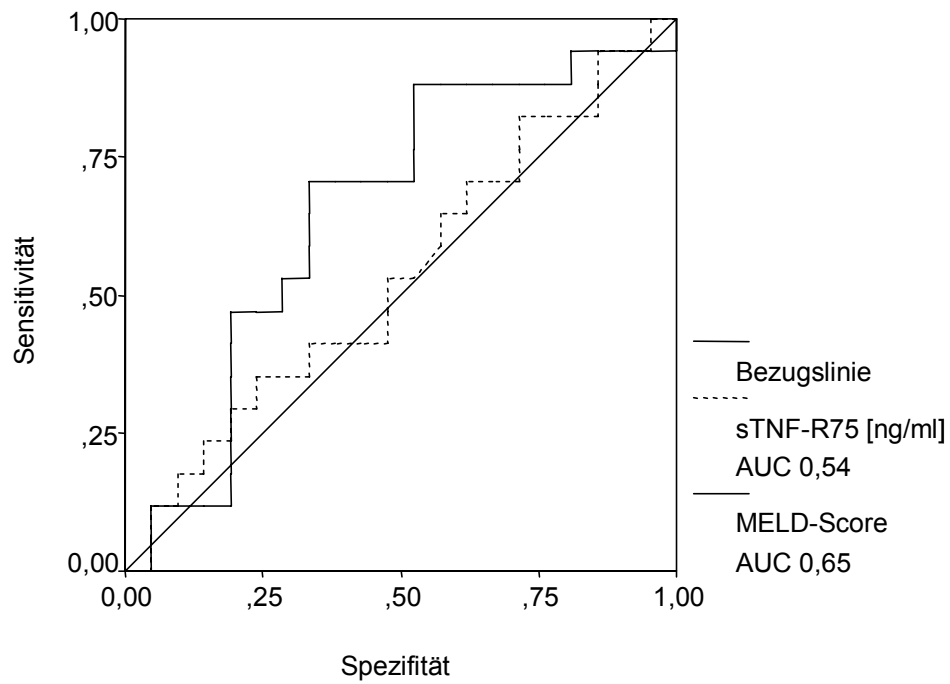
**Abbildung 10** ROC-Analysen der löslichen TNF-Rezeptoren sTNF-R55 und sTNF-R75 bezüglich des 6-monatigen Überlebens im direkten Vergleich zueinander.

Es wurde zusätzlich untersucht, ob die prognostische Wertigkeit des löslichen TNF-Rezeptors sTNF-R75 und des MELD-Scores in Bezug auf das 6-monatige Überleben bei Patienten in Stadien Child A und Child B größer ist als bei Patienten mit einer dekompensierten Leberzirrhose (Child C). Dabei konnten wir für die Gruppe der Child A und Child B Patienten feststellen, dass die AUC der sTNF-R75 Analyse mit 0,85 [CI: 0,68 – 1,01] geringfügig größer ist als die des MELD-Scores mit einer AUC von 0,83 [CI: 0,70 – 0,96]. In der Gruppe der Child C Patienten dagegen ist der MELD-Score den sTNF-R75 Serumkonzentrationen geringfügig überlegen: MELD-Score: AUC 0,65 [CI: 0,47 – 0,83]; sTNF-R75: AUC 0,58 [CI: 0,35 – 0,72]. Signifikante Unterschiede finden sich jedoch bei beiden Analysen nicht. Die entsprechenden ROC-Kurven werden in Abbildung 11 und Abbildung 12 gezeigt.



**Abbildung 11** ROC-Analysen des löslichen TNF-Rezeptors sTNF-R75 bezüglich des 6-monatigen Überlebens bei Child A und Child B Patienten im Vergleich zu ROC-Analysen des MELD-Scores.



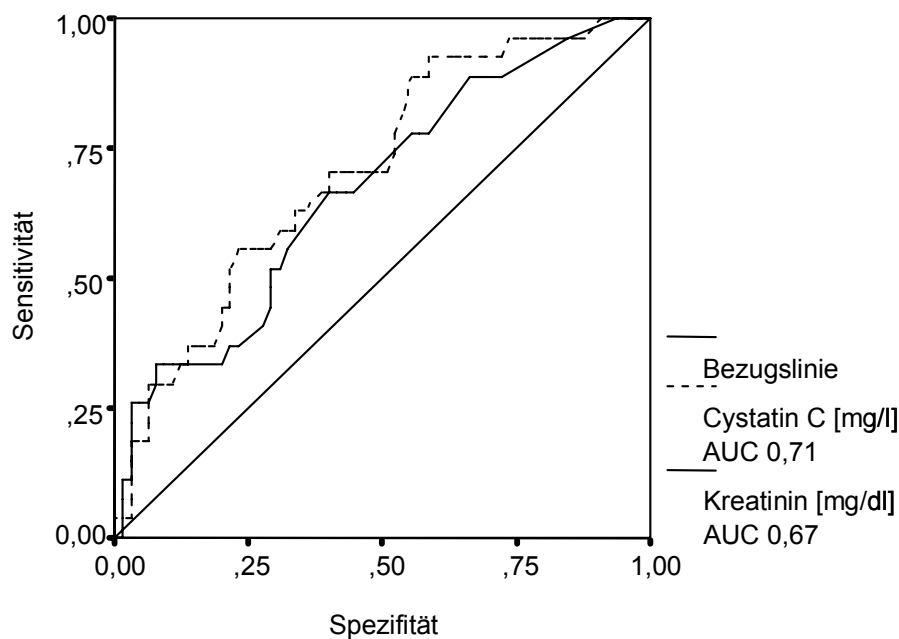


**Abbildung 12** ROC-Analysen des löslichen TNF-Rezeptors sTNF-R75 bezüglich des 6-monatigen Überlebens bei Child C Patienten im Vergleich zu ROC-Analysen des MELD-Scores.

## ROC-Analysen der Parameter Kreatinin und Cystatin C

Untersucht man ferner, wie gut der Nierenfunktionsparameter Kreatinin das 6- und 15-monatige Überleben der Patienten voraussagt, so ergibt sich für das 6-monatige Überleben eine AUC von 0,67 ([CI 0,55 – 0,79];  $p = 0,01$ ) und für das 15-monatige Überleben eine AUC von 0,66 ([CI 0,55 – 0,78];  $p = 0,008$ ).

Im Fall des Cystatin C ergibt sich entsprechend für das 6-monatige Überleben eine AUC von 0,71 ([CI 0,60 – 0,82];  $p = 0,002$ ) und für das 15-monatige Überleben eine AUC von 0,69 ([CI 0,58 – 0,80];  $p = 0,002$ ). Die ROC-Kurven für das 6-monatige Überleben sind in Abbildung 13 dargestellt.



**Abbildung 13** ROC-Analysen der Serumkonzentrationen des Kreatinins und Cystatin C bezüglich des 6-monatigen Überlebens.

## **Multivariate Analyse**

Um Parameter zu identifizieren, die signifikant mit dem 6- und 15-Monats-Überleben der Patienten assoziiert sind, wurde der lösliche TNF-Rezeptor sTNF-R75 und die Einzelparameter des MELD-Scores, also Kreatinin, INR und Bilirubin, in eine multivariate logistische Regressionsanalyse eingeschlossen.

Im Rahmen dieser Analyse wurden zunächst die entsprechenden Parameter in einer univariaten logistischen Regressionsanalyse auf ein Signifikanzniveau von  $p < 0,1$  geprüft und anschließend einer multivariaten logistischen Regressionsanalyse auf einem Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  unterzogen.

Sowohl die univariaten als auch die multivariaten logistischen Regressionsanalysen wurden bezüglich des 6-monatigen und des 15-monatigen Überlebens durchgeführt. Die vier nach 6 Monaten transplantierten Patienten wurden in der 15-Monatsanalyse zensiert.

Es werden zunächst die Ergebnisse der 6-Monatsanalyse dargestellt:

Alle oben genannten Parameter zeigen in der univariaten logistischen Regressionsanalyse signifikante Resultate auf einem Niveau von  $p < 0,1$ .

Schließt man diese Variablen in eine multivariate Regressionsanalyse ein, ergibt sich, dass lediglich die INR und der lösliche TNF-Rezeptor sTNF-R75 unabhängig signifikant mit dem Versterben der Patienten assoziiert sind.

Analog zu diesen Berechnungen wurde eine logistische Regressionsanalyse für das 15-monatige Überleben durchgeführt.

Die univariate Analyse zeigt auch hier alle untersuchten Parameter als signifikant auf. In der multivariaten logistischen Regressionsanalyse zeigen sich jedoch Unterschiede. Als unabhängiger signifikanter Parameter ergibt sich hier lediglich die INR.

Aus der multivariaten Analyse geht hervor, dass die INR als Leberfunktionsparameter sowohl bei der 6- als auch bei der 15-Monatsprognose ein unabhängig signifikanter Parameter ist.

Nach Durchführung der ROC Analysen der bekannten Prognosescores und des löslichen TNF-Rezeptors sTNF-R75, sowie einer multivariaten logistischen Regressionsanalyse lassen sich folgende Tatsachen feststellen:

Der MELD-Score ist als Zusammensetzung mehrerer Einzelparameter mit einer AUC von 0,79 der beste vorhandene Score um das Überleben der Patienten für einen Zeitraum von 6 und 15 Monaten möglichst genau vorausszusagen.

Er ist nicht signifikant besser als der Einzelparameter sTNF-R75, welcher somit ebenfalls als Prognoseparameter für Patienten mit Leberzirrhose eingesetzt werden kann.

Unsere multivariate Regressionsanalyse der MELD-Score-Einzelparameter und sTNF-R75 unterstreicht die Bedeutung des Parameters sTNF-R75, welcher neben der INR unabhängig mit dem 6-Monats-Überleben unserer Patienten assoziiert ist.

### ***Untersuchung der Prognoseparameter anhand der Alkoholgenese***

Bei insgesamt 55 der 92 Patienten liegt eine alkoholinduzierte Leberzirrhose vor. An dieser Stelle soll untersucht werden inwieweit die prognostischen Wertigkeiten der Prognoseparameter, insbesondere sTNF-R75, von einer Alkoholkrankung abhängen.

### **Verteilung der Child-Pugh-Score Punkte**

Tabelle 15 soll Aufschluss darüber geben, wie sich die Child-Pugh-Score Punkte in den Gruppen „Alkoholgenese“ und „andere Genese“ verteilen.

**Tabelle 15**

Verteilung der Child-Pugh-Score Punkte in den Subgruppen „Alkoholgenese“ und „andere Genese“

	<b>Alkoholgenese</b>	<b>andere Genese</b>	<b>Summe</b>
<b>Child A</b>	10	8	18
<b>Child B</b>	21	15	36
<b>Child C</b>	24	14	38
<b>Summe</b>	65	27	92

Dargestellt sind die Mittelwerte der Child-Pugh-Score Punkte in den Subgruppen „Alkoholgenese“ und „andere Genese“.

## Verteilung der Einzelparameter und Prognosescores in Abhängigkeit von der Alkoholgenese

Um zu sehen, in welchen Parametern sich die beiden Gruppen „Alkoholgenese“ und „andere Genese“ signifikant voneinander unterscheiden, wurden alle untersuchten Parameter anhand eines Mann-Whitney-U Tests auf signifikante Unterschiede geprüft. In Tabelle 16 sind zunächst die Einzelparameter, die in beiden Gruppen signifikant unterschiedliche Werte ( $p < 0,05$ ) zeigen, dargestellt.

**Tabelle 16**

Signifikante Laborwerte und demographische Daten in Abhängigkeit der Subgruppen „Alkoholgenese“ und „andere Genese“

	<b>Alkoholgenese</b> <b>n = 55</b>	<b>andere Genese</b> <b>n = 37</b>	<b>p</b>
<b>GPT</b>	25,11 (19,51 – 30,71)	45,32 (27,66 – 62,99)	s
<b>Leukozytenzahl</b> <b>[10<sup>3</sup> mm<sup>-3</sup>]</b>	8,1 (6,7 – 9,5)	5,6 (4,7 – 6,4)	s
<b>Thrombozytenzahl</b>	150,9 (127,1 – 174,7)	102,6 (84,1 – 121,1)	s
<b>Aszitesepisoden</b>	2,0 (1,6 – 2,4)	1,2 (0,8 – 1,7)	s

Dargestellt sind Mittelwert und 95% Konfidenzintervall. Die Signifikanz p ist mit Hilfe des Mann-Whitney-U Tests für unabhängige Stichproben errechnet worden; s = signifikant, n.s. = nicht signifikant.

Analog zu dieser Untersuchung wurden auch die Prognosescores Child, MELD und sTNF-R75 im Hinblick auf signifikante Unterschiede in den beiden Gruppen analysiert. In Tabelle 17 sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen dargestellt.

**Tabelle 17**

Child- und MELD-Score, sowie die Serumkonzentration von sTNF-R75 in Abhängigkeit der Subgruppen „Alkoholgenese“ und „andere Genese“

	<b>Alkoholgenese</b> <b>n = 55</b>	<b>andere Genese</b> <b>n = 37</b>	<b>p</b>
<b>Child - Punkte</b>	9,2 (8,5 – 9,9)	8,8 (8,1 – 9,6)	n.s.
<b>MELD</b>	14 (12 – 16)	14 (11 – 16)	n.s.
<b>sTNF-R75 [ng/ml]</b>	16,42 (13,32 – 19,53)	16,67 (12,65 – 20,68)	n.s.

Dargestellt sind Mittelwert und 95% Konfidenzintervall. Die Signifikanz p ist mit Hilfe des Mann-Whitney-U Tests für unabhängige Stichproben errechnet worden; s = signifikant, n.s. = nicht signifikant.

Obwohl einige Parameter in Abhängigkeit von einer alkoholischen Genese der Leberzirrhose signifikant unterschiedlich sind (Tabelle 16), unterscheiden die Prognosescores Child, MELD und auch sTNF-R75 das Subkollektiv der Patienten mit einer alkoholinduzierten Zirrhose von den Patienten mit anderer Genese nicht signifikant ( $p > 0,05$ ).

### ROC-Vergleich von MELD und sTNF-R75 im Hinblick auf die Genese „Alkohol“ und „andere Genese“

Um festzustellen, welchen Einfluss die alkoholische Lebererkrankung auf die prognostische Wertigkeit von MELD und sTNF-R75 hat, wird an dieser Stelle eine ROC-Analyse durchgeführt. Das Kollektiv wird zu diesem Zweck erneut in die Untergruppen „Alkoholgenese“ und „andere Genese“ aufgeteilt. Auch diese Analysen wurden sowohl für das 6-monatige als auch für das 15-monatige Überleben der Patienten durchgeführt; die 4 im Zeitraum zwischen 6 und 15 Monaten transplantierten Patienten wurden in der 15-Monatsuntersuchung zensiert (n = 88).

Tabelle 18 und Tabelle 19 zeigen die Ergebnisse dieser Untersuchungen.

**Tabelle 18**

Vergleich der Prognoseparameter MELD und sTNF-R75 mit Hilfe von ROC-Analysen für lebende und im Beobachtungszeitraum von 6 Monaten verstorbene Patienten mit Alkoholgenese (n = 55) und anderer Genese (n = 37)

Scores	Alkoholgenese n = 55				andere Genese n = 37			
	Cut-off	AUC* [CI**]	Sens.	Spez.	Cut-off	AUC* [CI**]	Sens.	Spez.
<b>MELD</b>	16,2	0,78 0,64 – 0,91	64,7	86,8	10,5	0,80 0,64 – 0,92	100,0	55,6
<b>sTNF-R75</b>	12,2	0,72 0,56 – 0,87	82,4	57,9	14,7	0,80 0,64 – 0,92	80,0	70,4

\*AUC = Area under the curve; Fläche unter der Kurve; \*\*CI = 95% - Konfidenzintervall



**Tabelle 19**

Vergleich der Prognoseparameter MELD und sTNF-R75 mit Hilfe von ROC-Analysen für lebende und im Beobachtungszeitraum von 15 Monaten verstorbene Patienten mit Alkoholgenese (n = 54) und anderer Genese (n = 34)

Scores	Alkoholgenese n = 54				andere Genese n = 34			
	Cut-off	AUC* [CI**]	Sens.	Spez.	Cut-off	AUC* [CI**]	Sens.	Spez.
<b>MELD</b>	13,9	0,73 0,60 – 0,87	66,7	80,0	12,9	0,87 0,73 – 1,0	75,0	88,9
<b>sTNF-R75</b>	13,8	0,68 0,53 – 0,83	66,7	73,3	11,6	0,79 0,64 – 0,94	75,0	72,2

Die 4 transplantierten Patienten wurden zensiert. \*AUC = Area under the curve; Fläche unter der Kurve; \*\*CI = 95% - Konfidenzintervall

Um einen direkten Überblick zu haben, stellt Tabelle 20 noch einmal sämtliche AUC's des MELD-Scores und des Prognoseparameters sTNF-R75 gegenüber.

**Tabelle 20**

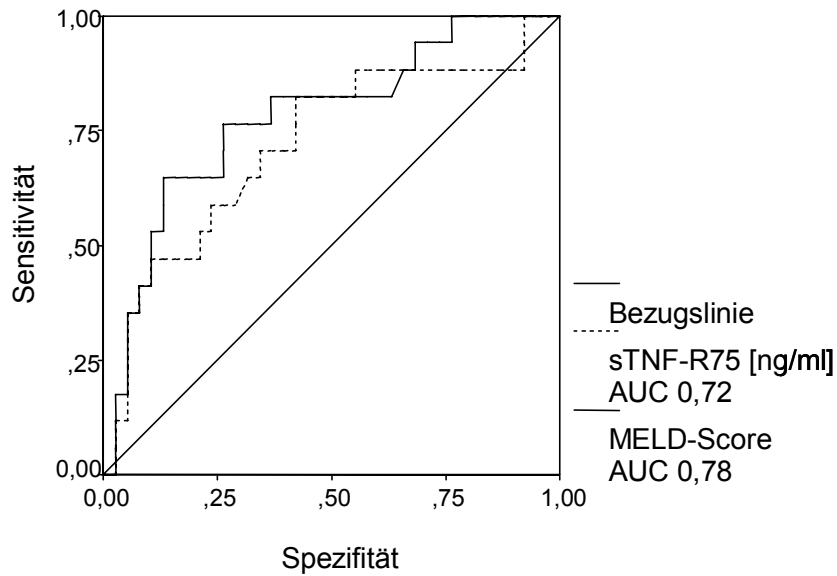
Direkter Vergleich der ROC-Ergebnisse von MELD-Score und sTNF-R75 des Gesamtkollektivs und der Subkollektive „Alkoholgenese“ und „andere Genese“ für lebende und im Beobachtungszeitraum von 6 und 15 Monaten verstorbene Patienten

		<b>Subkollektiv „Alkohol- genese“</b>	<b>Gesamtkollektiv</b>	<b>Subkollektiv „andere Genese“</b>
<b>6 Monate</b>	<b>MELD</b>	0,78	0,79	0,80
	<b>sTNF-R75</b>	0,72	0,74	0,80
<b>15 Monate</b>	<b>MELD</b>	0,73	0,79	0,87
	<b>sTNF-R75</b>	0,68	0,72	0,79

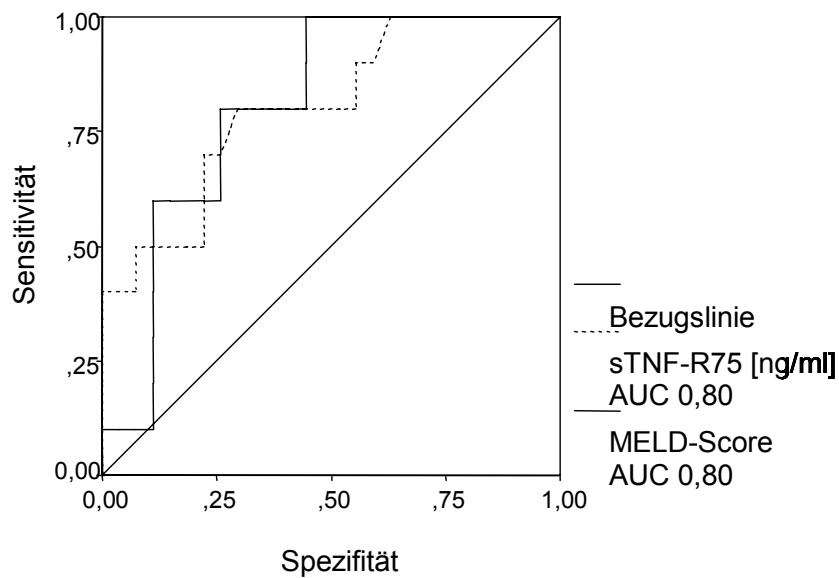
Dargestellt sind die AUC's für beide Parameter. Die transplantierten Patienten wurden in den 15-Monatsanalysen zensiert.

An Tabelle 20 ist eindeutig zu erkennen, dass sowohl der MELD-Score als auch sTNF-R75 in der 6- und 15 Monatsanalyse im Kollektiv ohne Alkoholgenese die größten AUC's aufweisen. Etwas kleiner sind die AUC's der beiden Scores im Gesamtkollektiv, welches alle Ursachen der Leberzirrhose umfasst. In der Untergruppe der Patienten mit einer alkoholischen Leberzirrhose sind die AUC's am kleinsten.

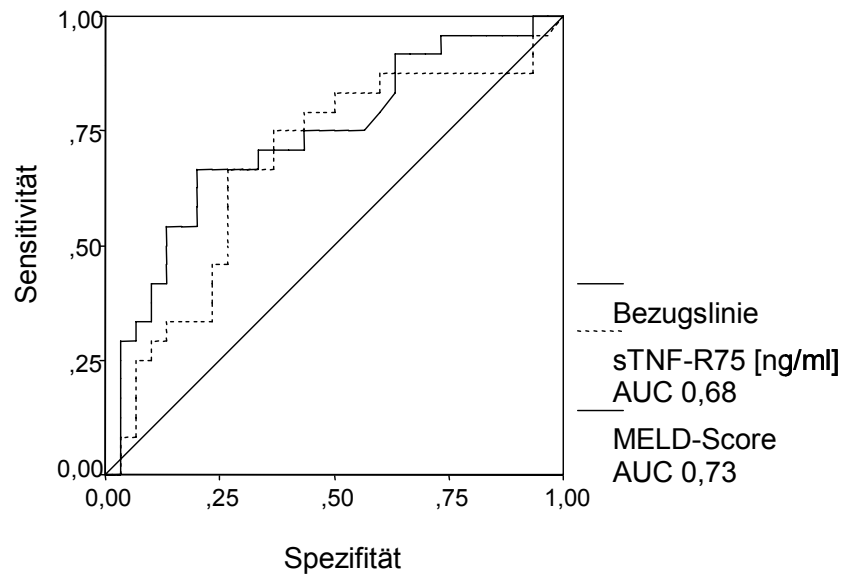
Abbildung 14 und Abbildung 15 zeigen zunächst die ROC-Kurven des MELD-Scores und sTNF-R75 bei Patienten mit (Abbildung 14) und ohne (Abbildung 15) Alkoholgenese in einem Beobachtungszeitraum von 6 Monaten, Abbildung 16 und Abbildung 17 die entsprechenden Graphiken für den Beobachtungszeitraum von 15 Monaten.



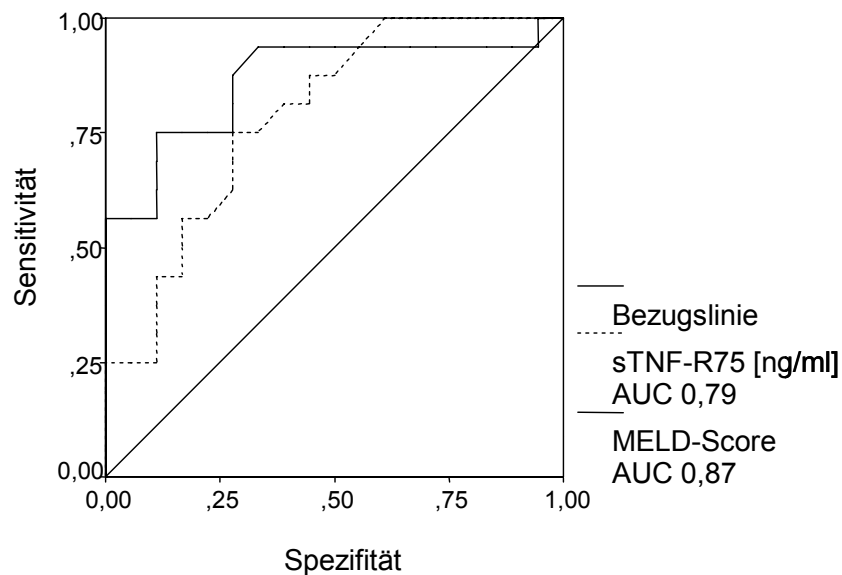
**Abbildung 14** ROC-Analysen des MELD-Scores und des löslichen TNF-Rezeptors sTNF-R75 bezüglich des 6-monatigen Überlebens bei  $n = 55$  Patienten mit Alkoholgenese.



**Abbildung 15** ROC-Analysen des MELD-Scores und des löslichen TNF-Rezeptors sTNF-R75 bezüglich des 6-monatigen Überlebens bei  $n = 37$  Patienten ohne Alkoholgenese.



**Abbildung 16** ROC-Analysen des MELD-Scores und des löslichen TNF-Rezeptors sTNF-R75 bezüglich des 15-monatigen Überlebens bei  $n = 54$  Patienten mit Alkoholgenese.



**Abbildung 17** ROC-Analysen des MELD-Scores und des löslichen TNF-Rezeptors sTNF-R75 bezüglich des 15-monatigen Überlebens bei  $n = 34$  Patienten ohne Alkoholgenese.

## Diskussion

In einer Pilotstudie an 30 Patienten mit Leberzirrhose ohne akute Infektion wurde festgestellt, dass sTNF-R75 einen guten Prognoseparameter darstellte, der signifikant besser war als der Child-Pugh-Score (Reichel et al., 2000). Dieses Resultat galt im Gegensatz zu anderen Studien für alle Patienten mit Leberzirrhose, unabhängig von der Ätiologie (von Baehr et al., 2000; Naveau et al., 1998). Die Ergebnisse müssen jedoch unter dem Gesichtspunkt der geringen Patientenzahl gewertet werden.

Unser Ziel war es, diesen Befund an einem größeren Patientenkollektiv zu validieren. Dazu haben wir sTNF-R75 analog zur Pilotstudie mit dem Child-Pugh-Score und zusätzlich mit anderen ätiologie-unabhängigen Scores wie dem MELD-Score und dem Christensen-Score verglichen, die in der Pilotstudie nicht untersucht worden sind.

Um den Zusammenhang des löslichen TNF-Rezeptors sTNF-R75, der anderen untersuchten Parameter und der Prognosecores mit dem Schweregrad der Leberzirrhose und damit mit dem Child-Pugh-Score zu untersuchen, haben wir eine Querschnittkohortenstudie durchgeführt. Hier konnten wir bestätigen, dass die Serumkonzentrationen der löslichen TNF-Rezeptoren sTNF-R55 und sTNF-R75 mit Child-Pugh-Score Punkten korrelieren (Tabelle 4). Patienten im Leberzirrhosestadium Child C weisen signifikant höhere sTNF-Werte auf als Patienten mit Child A: sTNF-R55 2,8 ng/ml (Child A) vs. 6,2 ng/ml (Child C), sTNF-R75 8,9 ng/ml (Child A) vs. 20,6 ng/ml (Child C). Zudem konnten wir auch signifikante Unterschiede der sTNF-Serumkonzentrationen bei Patienten mit Leberzirrhose im Stadium Child A und Child B feststellen: sTNF-R55 2,8 ng/ml (Child A) vs. 4,8 ng/ml (Child B), sTNF-R75 8,9 ng/ml (Child A) vs. 16,0 ng/ml (Child B). Diese Ergebnisse decken sich mit den Ergebnissen der Pilotstudie, bei der ebenfalls signifikant höhere Werte von sTNF-R75 bei Patienten im Stadium Child C als bei Patienten im Stadium Child A festgestellt wurden (Reichel et al., 2000). Auch Giron-Gondalez und Mitarbeiter fanden bei Patienten mit fortgeschrittener Leberzirrhose signifikant höhere sTNF-R Werte (Child C vs. B und vs. A) (Giron-Gondalez et al., 2004). Die von uns gefundenen Ergebnisse stützen also die Resultate früherer Untersuchungen, dass bei Patienten ohne klinische Zeichen akuter Infektionen mit Zunahme des

Schweregrades der Leberzirrhose ein Anstieg der Serumkonzentrationen der löslichen TNF-Rezeptoren sTNF-R55 und sTNF-R75 stattfindet.

Es kann diskutiert werden ob ein Anstieg der sTNF-R auf einem unerkannten Infekt der Patienten oder einer erniedrigten renalen Clearance für sTNF-R beruht (Bemelmans et al., 1993).

Bei keinem unserer Patienten gab es klinischen Anhalt für eine akute Infektion, dennoch wurden die Infektparameter CRP, IL-6 und die Leukozytenzahl genauer untersucht, um akute Infektionen sicher auszuschließen.

Die Serumkonzentration des C-Reaktiven Proteins war in unserer Studie bei Patienten im Stadium Child C mehr als dreimal so hoch wie bei Patienten im Stadium Child A: Mittelwert CRP Child A: 7,6 mg/l; Child C: 25,7 mg/l;  $p \leq 0,001$  (Tabelle 4). Die mit dem Child-Stadium der Patienten steigenden CRP-Serumkonzentrationen können allerdings nicht als Zeichen einer akuten Infektion gewertet werden, da auch Tilg und Mitarbeiter schon 1992 signifikant höhere CRP-Serumwerte bei zirrhotischen Patienten als bei nicht zirrhotischen Patienten mit chronischer Lebererkrankung ohne akute Infektion feststellten; auch diese Arbeitsgruppe fand signifikant höhere CRP-Werte in Child C als in Child A Patienten (Mittelwert CRP Child A: 8,8 mg/l; Child C: 26,9 mg/l) (Tilg et al., 1992). Interessanterweise sind die von uns gemessenen CRP-Serumkonzentrationen bei Patienten im Stadium Child C (25,7 mg/l) fast identisch mit den von Tilg und Mitarbeitern gefundenen Konzentrationen (26,9 mg/l) (Tilg et al., 1992).

Die Ergebnisse unserer CRP-Untersuchungen deuten also keine akute Infektion an. Neben dem C-Reaktiven Protein wird auch das Zytokin IL-6 zur Diagnose akuter Infektionen genutzt. Byl und Mitarbeiter lieferten einen direkten Vergleich von IL-6 Werten bei leberzirrhotischen Patienten mit und ohne Infektion (Byl et al., 1993). Hier wurden in einer Studie TNF- $\alpha$  und IL-6 Serumkonzentrationen bei zirrhotischen Patienten mit nachgewiesenen Infektionen gemessen und mit einer Gruppe von Zirrhosepatienten ohne Infektion verglichen. Dabei wurde bei den infektfreien Patienten mit Leberzirrhose ein IL-6 Mittelwert von  $127 \pm 54$  pg/ml gemessen, alle Patienten mit Leberzirrhose und nachgewiesener Infektion wiesen einen IL-6 Wert über einer Schwelle von 200 pg/ml auf ( $3631 \pm 1813$  pg/ml). Die Sensitivität von IL-6 für das Erkennen einer Infektion betrug 100%, die Spezifität 89%.

Von unseren 92 Patienten wiesen lediglich vier Patienten eine IL-6 Serumkonzentration von über 200 pg/ml auf, das Maximum lag bei 394 pg/ml. Die Mittelwerte des IL-6 in den Child-Pugh-Gruppen steigen mit zunehmender Child-Pugh-Klasse: Child A: 11,5 pg/ml; Child B: 26,2 pg/ml; Child C: 37,2 pg/ml (Tabelle 4). Die Mittelwerte liegen damit sogar deutlich unter dem von Byl und Mitarbeitern genannten Mittelwert von 127 pg/ml bei den infektfreien Patienten mit Leberzirrhose (Byl et al., 1993).

Die Ergebnisse der IL-6 Messungen decken sich mit denen weiterer Studien. Auch Giron-Gondalez und Mitarbeiter fanden signifikant höhere IL-6 Werte bei Patienten mit Leberzirrhose im Stadium Child C verglichen mit Child A - und Child B - Patienten (Giron-Gondalez et al., 2004). Lee und Mitarbeiter beobachteten ebenso wie Tilg und Mitarbeiter einen Anstieg der IL-6 Serumkonzentrationen mit zunehmender Child-Pugh Punktzahl: Tilg: Child A: 16,9 pg/ml; Child B: 28,5 pg/ml; Child C: 41,4 pg/ml; Lee: Child A: 3,9 pg/ml; Child B: 6,3 pg/ml; Child C: 11,7 pg/ml (Lee et al., 1996; Tilg et al., 1992).

Ein Vergleich der Leukozytenzahlen in Child A - und Child C - Patienten zeigte bei unseren Patienten, dass die entsprechenden Mittelwerte nicht signifikant unterschiedlich waren (Tabelle 4).

Die Abhängigkeit der IL-6- und CRP-Serumkonzentrationen bei unseren infektfreien Patienten vom Stadium der Lebererkrankung, und damit vom Child-Pugh-Score, steht im Einklang mit der Schlussfolgerung von Tilg und Mitarbeitern, dass der beobachtete IL-6 und CRP-Anstieg eher eine Folge der Leberdysfunktion darstellt, und nicht die Konsequenz einer akuten Infektion zu sein scheint (Tilg et al., 1992). Damit ist es wahrscheinlich, dass auch die löslichen TNF-Rezeptoren aufgrund des zunehmenden Schweregrades der Leberzirrhose erhöht sind, und nicht Folge einer akuten Infektion sind. Die Ergebnisse neuerer Studien deuten darauf hin, dass bei Patienten mit Leberzirrhose enterale Bakterien im Sinne einer normalen Darmflora eine lokalisierte Immunantwort in den mesenterialen Lymphknoten provozieren, welche wiederum zu einer Monozytenaktivierung mit anhaltender TNF- $\alpha$  Produktion führt (Muños et al., 2005). Diese erhöhten Spiegel von TNF- $\alpha$  können wiederum zu einem vermehrten Shedding von sTNF-R führen, was den von uns gefundenen Zusammenhang zwischen Serumkonzentrationen von sTNF-R und Schwere der Leberzirrhose unabhängig von akuten Infektionen erklären könnte.

Ein weiterer Grund für den von uns gefundenen Anstieg der sTNF-R75 Serumkonzentrationen bei fortgeschrittener Leberzirrhose könnte eine Abnahme der Nierenfunktion und damit eine mangelnde renale TNF – sTNF – Clearance sein, wie von Bemelmans und Mitarbeitern am Tiermodell gezeigt (Bemelmans et al., 1993).

Reichel und Mitarbeiter sowie Froom und Mitarbeiter haben eine signifikante Korrelation von sTNF-R mit Kreatinin beschrieben, letztere an einem Kollektiv von Patienten mit Sepsis-Syndrom (Reichel et al., 2000; Froom et al., 1994). Halwachs und Mitarbeiter haben Serumkonzentrationen von sTNF-R in Patienten mit Nierenerkrankungen gemessen und dabei in einer Gruppe von Patienten mit chronischem Nierenversagen ohne Dialyse ebenfalls eine signifikante Korrelation von sTNF-R und Kreatinin gefunden ( $R = 0,9$ ,  $p = 0,001$ ;  $R =$  Pearson's Korrelationskoeffizient) (Halwachs et al., 1994). Aufgrund dieser Ergebnisse wurde in unserer Studie eine bivariate Korrelationsanalyse durchgeführt (Tabelle 6). Zusätzlich zur Pilotstudie haben wir dabei nicht nur den Zusammenhang von den löslichen TNF-Rezeptoren mit Kreatinin untersucht, sondern auch Cystatin C und die Kreatinin-Clearance in unsere Analysen eingeschlossen.

Es ergaben sich unter anderem eine signifikant positive Korrelation von sTNF-R55 und sTNF-R75 mit der Kreatininserumkonzentration (sTNF-R55:  $s = 0,626$ ,  $p \leq 0,001$ ; sTNF-R75:  $s = 0,558$ ,  $p \leq 0,001$ ) und eine signifikant negative Korrelation mit der Kreatinin-Clearance: sTNF-R55:  $s = -0,444$ ,  $p \leq 0,001$ , sTNF-R75:  $s = -0,552$ ;  $p \leq 0,001$ . sTNF-R55 und sTNF-R75 korrelieren zudem auch mit Cystatin C: sTNF-R55:  $s = 0,745$ ,  $p < 0,001$ ; sTNF-R75:  $s = 0,670$ ;  $p < 0,001$ .

Cystatin C gilt gerade bei Patienten mit Leberzirrhose und beginnender Niereninsuffizienz als ein sehr guter Parameter für die Nierenfunktion (Stickle et al., 1998; Gerbes et al., 2002). Dabei bestätigen unsere Ergebnisse die Resultate von Gerbes und Mitarbeitern (Gerbes et al., 2002): sowohl Cystatin C als auch Kreatinin können signifikant zwischen Patienten mit einer Kreatinin-Clearance von kleiner und größer 70 ml/min unterscheiden (Tabelle 8); eine ROC-Analyse der beiden Parameter zeigt jedoch, dass Cystatin C bei Patienten mit Leberzirrhose ein sensitiverer Parameter für das Erkennen einer beginnenden Nierendysfunktion ist als Kreatinin (Abbildung 2).

Fasst man diese Ergebnisse zusammen, kann man feststellen, dass eine herabgesetzte Nierenfunktion und damit eine mangelnde renale Clearance im



Rahmen der Leberzirrhose mit erhöhten sTNF-R55 und sTNF-R75 Serumkonzentrationen assoziiert sind, was im Einklang mit den von Bemelmans und Mitarbeitern sowie Froom und Mitarbeitern gefundenen Ergebnissen steht (Bemelmans et al., 1993; Froom et al., 1994). Die von uns gemessenen, deutlich erhöhten, sTNF-R75 Serumkonzentrationen können dadurch allerdings nicht allein erklärt werden, so dass die renale Clearance wahrscheinlich nicht der alleinige Grund für den Anstieg der löslichen TNF-Rezeptoren bei Patienten mit Leberzirrhose ist.

Im Rahmen unserer prospektiven Kohortenstudie haben wir untersucht, inwieweit die Serumkonzentrationen des sTNF-R55, sTNF-R75 und andere Parameter bei im Beobachtungszeitraum von 6 und 15 Monaten verstorbenen und überlebenden Patienten signifikant unterschiedlich sind.

Von 92 eingeschlossenen Patienten sind 30% in dem Beobachtungszeitraum von 6 Monaten (Kurzzeitmortalität) und 44% in dem Beobachtungszeitraum von 15 Monaten verstorben. Andere Arbeiten wie die von Angermayr und Mitarbeitern sowie Oellerich und Mitarbeitern zeigen mit 16% niedrigere Kurzzeitmortalitäten (Angermayr et al., 2003; Oellerich et al., 1991).

Vergleichen wir unsere 15-Monatsmortalität von 44%, also einen mittelfristigen Beobachtungszeitraum, mit den Ergebnissen anderer Studien, so finden wir eine Mortalitätsrate von maximal 27% bei Angermayr und Mitarbeitern (Angermayr et al., 2003). Reichel und Mitarbeiter beschreiben eine 15-Monatsmortalität von 17%, Botta und Mitarbeiter eine 12-Monatsmortalität von 24% (Reichel et al., 2000; Botta et al., 2003).

Die von uns gefundenen Mortalitätsraten sind also im Beobachtungszeitraum von sowohl 6 Monaten als auch 15 Monaten deutlich höher als in anderen Studien, was auf verschiedene Gründe zurückgeführt werden kann.

Zum einen ist die Verteilung der Patienten in den einzelnen Child-Pugh-Gruppen von Bedeutung. In unserem Kollektiv waren Patienten mit Child-Pugh-Status B und C mit 39% und 41% ungefähr gleich verteilt. Im Gegensatz dazu befanden sich jedoch nur 20% der Patienten im Stadium Child A. Damit ist die Prozentzahl der Patienten in den Stadien Child B und Child C größer als in der Pilotstudie (Child A, Child B, Child C je 33%)(Reichel et al., 2000).

In der Studie von Botta und Mitarbeitern ist die Gruppe der Child C Patienten am kleinsten (Botta et al., 2003). Von 129 Patienten gehören 33% der Individuen der

Gruppe Child A an, 49% der Gruppe Child B und nur 18% der Gruppe Child C. Ähnlich sind die 107 Patienten im Kollektiv von Oellerich und Mitarbeitern verteilt: hier finden sich 26% in der Gruppe Child A, 50% in der Gruppe Child B und nur 24% in der Gruppe Child C (Oellerich et al., 1991). Zudem muss betont werden, dass die Kurzzeitmortalität in jener Untersuchung bereits nach 120 Tagen berechnet wurde.

Im Fall der Studie von Angermayr und Mitarbeitern ist der Anteil von Child C Patienten mit 22% von insgesamt 238 Patienten ebenfalls sehr gering (Child A 32%, Child B 46%), wodurch die niedrige Kurzzeitmortalität von 16% erklärt werden kann (Angermayr et al., 2003). Zudem handelt es sich hier ausschließlich um TIPS-Patienten.

Die Tatsache, dass sowohl in der Pilotstudie von Reichel und Mitarbeitern als auch in den anderen aufgeführten Studien mehr Patienten in früheren Stadien der Leberzirrhose untersucht wurden, könnte also die im Vergleich zu unseren Ergebnissen niedrigeren Mortalitätsraten erklären (Angermayr et al., 2003; Botta et al., 2003; Oellerich et al., 1991; Reichel et al., 2000).

Es muss zudem bedacht werden, dass in unsere Studie nur stationär betreute Patienten mit Leberzirrhose ohne akute Infektion in die Studie eingeschlossen wurden; dies mag zu einem Selektionsbias in Richtung schlechterer Prognose geführt haben.

Die Todesursachen unserer Patienten waren zu 91% Folgen der Leberzirrhose (Tabelle 9).

23,5% der Patienten starben an einer dekompensierten Leberzirrhose, 20,6% an den Folgen einer Sepsis, 5,9% aufgrund einer gastrointestinalen Blutung, 11,8% im Rahmen eines hepatorenenalen Syndroms und 23% im Coma hepaticum. Als entsprechende Zahlen in der Studie von Chatzicostas und Mitarbeitern bei Patienten mit Leberzirrhose waren bei 147 Patienten die Todesursachen wie folgt verteilt: 30,4% Leberversagen, 26% Infektionen und 4,5% gastrointestinale Blutungen (Chatzicostas et al., 2003). In dem von Butt und Mitarbeitern untersuchten Kollektiv starben 21% an Leberversagen, 6% an Infektionen (Spontan-bakterielle Peritonitis), 19% an einem hepatorenenalen Syndrom und 38% an einer gastrointestinalen Blutung (Butt et al., 1998).

Die Mortalitätsraten und Todesursachen unseres Patientenkollektivs entsprechen also den Ergebnissen anderer Studien.

Die Analyse der löslichen TNF-Rezeptoren zeigt im Fall des sTNF-R75 bei im Beobachtungszeitraum von 6 Monaten verstorbenen Patienten fast doppelt so hohe Serumkonzentrationen wie bei lebenden Patienten (Tabelle 12): überlebende Patienten: 13,9 ng/ml; im Beobachtungszeitraum von 6 Monaten verstorbene Patienten: 23 ng/ml,  $p < 0,001$ . Die Serumkonzentration des sTNF-R55 ist 1,6-mal höher bei im Beobachtungszeitraum verstorbenen Patienten (überlebende Patienten: 4,26 ng/ml; im Beobachtungszeitraum von 6 Monaten verstorbene Patienten: 6,71 ng/ml,  $p = 0,001$ ). Diese Ergebnisse bestätigen die Resultate der entsprechenden Untersuchungen der Pilotstudie; hier wurden ebenfalls signifikant höhere sTNF-R75 Serumkonzentrationen bei verstorbenen Patienten gezeigt (15 Monate lebend: 11 ng/ml; verstorben: 29 ng/ml,  $p = 0,003$ ) (Reichel et al., 2000).

Froon und Mitarbeiter haben sTNF-R55 und sTNF-R75 Serumkonzentrationen bei Patienten mit Sepsis-Syndrom gemessen und die Plasmakonzentrationen bei lebenden und im Beobachtungszeitraum verstorbenen Patienten verglichen (Froon et al., 1994). Dabei wurden lediglich im Falle des sTNF-R55 signifikant höhere Plasmakonzentrationen bei im Beobachtungszeitraum verstorbenen Patienten gefunden (überlebend: 5,2 ng/ml, verstorben: 12,2 ng/ml;  $p < 0,005$ ); sTNF-R75 Konzentrationen waren ebenfalls höher, die Unterschiede erreichten aber keine statistische Signifikanz ( $p = 0,06$ ).

Durch die von Reichel und Mitarbeitern gefundenen signifikant höheren sTNF-R75 Serumkonzentrationen bei verstorbenen Patienten wurde im Rahmen der Pilotstudie der Zusammenhang von sTNF-R75 und der Mortalitätsrate deutlich (Reichel et al., 2000). In unserer Studie können wir diese Ergebnisse nochmals bestätigen, zumal auch die von uns gemessenen sTNF-R75 Serumkonzentrationen mit dem Child-Pugh-Score ( $s = 0,426$ ,  $p < 0,001$ ) korrelieren und bei lebenden und im Beobachtungszeitraum von 6 Monaten verstorbenen Patienten signifikant unterschiedlich sind (Tabelle 10).

Es folgt die Analyse des Nierenfunktionsparameters Kreatinin und der Kreatinin-Clearance (Tabelle 10). Die Kreatininserumkonzentration ist bei verstorbenen Patienten etwa eineinhalbmal so hoch wie bei lebenden Patienten (6 Monate lebend: 1,24 mg/dl, verstorben 1,9 mg/dl;  $p = 0,01$ ), während die Kreatinin-Clearance bei diesen Patienten um fast die Hälfte reduziert ist (6 Monate lebend: 76,14 ml, verstorben: 43,25 ml;  $p = 0,001$ ).

Dieser Befund wird von anderen Forschungsgruppen bestätigt. So fanden Serra und Mitarbeiter bei im Beobachtungszeitraum verstorbenen Patienten mit Leberzirrhose signifikant höhere Kreatininserumkonzentrationen als bei überlebenden Patienten (Serra et al., 2004). Untersuchungen von Froom und Mitarbeitern zeigten bei im Beobachtungszeitraum verstorbenen Patienten signifikant höhere sTNF-R55 Konzentrationen und bei diesen Patienten zusätzlich auch signifikant erhöhte Konzentrationen von Kreatinin (Froom et al., 1994). Im Gegensatz dazu zeigen die Resultate der Pilotstudie von Reichel und Mitarbeitern, dass lebende und verstorbene Patienten mit Leberzirrhose ohne akute Infektionen trotz hoher sTNF-R75 Serumkonzentrationen annähernd gleiche Kreatininserumkonzentrationen aufwiesen (15 Monate lebend: 0,9 mg/dl, verstorben: 1,0 mg/dl) (Reichel et al., 2000). Es fällt auf, dass diese in der Pilotstudie gemessenen Kreatininserumkonzentrationen bei lebenden und verstorbenen Patienten deutlich unter den von uns gemessenen Werten lagen. Dies könnte wiederum Folge dessen sein, dass der Prozentsatz von Patienten mit einer dekompensierten Leberzirrhose und dadurch eingeschränkter Nierenfunktion in der vorliegenden Studie größer ist als in der Pilotstudie (Reichel et al., 2000).

Analog zum Kreatinin unterscheidet auch bei Studieneinschluss gemessene Serumkonzentrationen von Cystatin C signifikant zwischen lebenden und nach 6 und 15 Monaten verstorbenen Patienten (Tabelle 10 und Tabelle 11). Die Cystatin C Serumkonzentration war bei im Verlauf verstorbenen Patienten um den Faktor 1,4 höher als bei überlebenden Patienten.

Neben den Einzelparametern wurden auch die Prognosescores Child, MELD und Christensen darauf untersucht, ob sie signifikant zwischen überlebenden und nach 6- und 15 Monaten verstorbenen Patienten unterscheiden können (Tabelle 12, Tabelle 13).

Es stellt sich heraus, dass der Child-Pugh-Score und der MELD-Score bei überlebenden und nach 6 und 15 Monaten verstorbenen Patienten signifikant unterschiedlich sind: Child-Pugh-Score 6 Monate überlebend: 8, verstorben: 10;  $p = 0,001$ ; MELD-Score 6 Monate überlebend: 12, verstorben: 19;  $p < 0,001$ .

Der Christensen-Score zeigt nur in der 6-Monatsanalyse signifikant höhere Werte bei verstorbenen Patienten als bei lebenden Patienten.

Die Ergebnisse der Child- und MELD-Score-Untersuchungen bestätigen die Resultate anderer Studien. Die Ergebnisse von Botta und Mitarbeitern, Serra und Mitarbeitern sowie Giannini und Mitarbeitern beschreiben ebenfalls signifikant höhere MELD- und Child-Pugh-Score Werte bei im Beobachtungszeitraum verstorbenen Patienten, wobei sich in der letztgenannten Studie der MELD-Score sogar einem mit Kreatinin modifizierten Child-Pugh-Score deutlich überlegen zeigte (Botta et al., 2003; Giannini et al., 2004; Serra et al., 2004)

Die in der Pilotstudie bestimmten Child-Pugh-Score Punkte waren dagegen bei überlebenden und im Beobachtungszeitraum verstorbenen Patienten nicht signifikant unterschiedlich (15 Monate überlebend: 8, verstorben 9;  $p = 0,2493$ ) (Reichel et al., 2000).

Die Einzelparameter des MELD-Scores Kreatinin, INR und Bilirubin, sowie der Parameter sTNF-R75 wurden als Prognoseparameter für das 6- und 15-Monats-Überleben in einer multivariaten Regressionsanalyse untersucht. Die Einzelparameter wurden dabei zunächst in einer univariaten Analyse auf Signifikanz geprüft und anschließend einer multivariaten Regressionsanalyse unterzogen.

In der Analyse der 6-Monatsmortalität gingen dabei die INR und der lösliche TNF-Rezeptor sTNF-R75 als unabhängig signifikante Parameter hervor, bei der 15-Monatsanalyse blieb einzig die INR als unabhängig signifikanter Parameter übrig.

In der multivariaten Regressionsanalyse konnte damit gezeigt werden, dass der Nierenfunktionsparameter Kreatinin nicht zu den Parametern gehört, die unabhängig mit dem 6- und 15-monatigen Überleben der Patienten assoziiert sind.

Andere Forschungsgruppen haben ebenfalls multivariate Regressionsanalysen unter Einschluss der Serumkonzentration von Kreatinin und der INR durchgeführt. Dabei erwies sich in der Studie von Botta und Mitarbeitern die INR analog zu unseren Ergebnissen in der multivariaten Regressionsanalyse als eine der unabhängig mit der 6-Monatsmortalität assoziierten Parameter (Botta et al., 2003).

Auch die von uns durchgeführten ROC-Analysen unterstreichen die mögliche Bedeutung von sTNF-R75 für die Vorhersage der Kurzzeitmortalität von Patienten mit Leberzirrhose ohne akute Infektion. Sowohl Einzelparameter (sTNF-R75, Kreatinin, Cystatin C) als auch die drei untersuchten Prognosescores (Child-Pugh-

Score, MELD-Score und Christensen-Score) wurden mittels ROC-Analyse daraufhin untersucht, wie akkurat sie die Patientenmortalität voraussagen konnten.

Die ROC-Analysen des löslichen TNF-Rezeptors sTNF-R75 zeigten AUC's (AUC = Area Under the Curve) von 0,74 und 0,72 in der 6- und 15-Monatsanalyse. Die von uns errechneten AUC's sind damit kleiner als die entsprechenden, von Reichel und Mitarbeitern erhobenen, Befunde bei Patienten mit weniger fortgeschrittener Leberzirrhose (AUC für sTNF-R75: 0.96) (Reichel et al., 2000).

Wir haben uns die Frage gestellt, ob gerade der hohe Prozentsatz von Patienten im Stadium einer dekompensierten Leberzirrhose in unserer Studie die im Vergleich zur Pilotstudie kleinere Fläche unter der Kurve bedingt. Aus diesem Grund wurden die ROC-Analysen des sTNF-R75 zusätzlich in der Gruppe der Child A und Child B Patienten im Vergleich zu der Gruppe der Child C Patienten mit einer dekompensierten Zirrhose durchgeführt.

Dabei konnten wir feststellen, dass die AUC von 0,85 im Falle der Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose im Stadium Child A und Child B deutlich höher ist als die AUC von 0,53 bei Patienten mit einer dekompensierten Leberzirrhose im Stadium Child C (Abbildung 11, Abbildung 12) Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass sTNF-R75 besonders bei Patienten im Anfangsstadium der Leberzirrhose ein wichtiger Prognosemarker ist. Signifikante Unterschiede zum MELD-Score, der im direkten Vergleich zu sTNF-R75 in diesen Subgruppen untersucht wurde, bestehen jedoch nicht.

Die Ergebnisse der ROC-Analysen von Kreatinin und Cystatin C zeigen, dass beide Parameter kleinere AUC's aufweisen als sTNF-R75 (Kreatinin 6 Monate: 0,67; 15 Monate 0,66; Cystatin C 6 Monate: 0,71; 15 Monate 0,69). Es bestehen jedoch keine signifikanten Unterschiede.

Die ROC-Analysen zeigen, dass sTNF-R75 als Prognoseparameter bei Patienten mit Leberzirrhose ohne akute Infektionen den Nierenfunktionsparametern Kreatinin und Cystatin C in unserer Studie nicht signifikant überlegen war. Aufgrund der multivariaten Regressionsanalyse wird zusätzlich klar, dass sTNF-R75 im Gegensatz zu Kreatinin und Cystatin C einen Parameter darstellt, der unabhängig mit dem 6-Monats-Überleben der Patienten assoziiert ist.

Der lösliche TNF-Rezeptor sTNF-R75 wurde mittels ROC-Analyse schließlich mit dem Child-Pugh-, MELD- und Christensen-Score verglichen.

Dabei stellten wir fest, dass der MELD-Score dem sTNF-R75 in Bezug auf die 6- und 15-Monatsprognose leicht, aber nicht signifikant überlegen ist (Tabelle 14). sTNF-R75 liefert nach unseren Analysen in den Prognosezeiträumen von 6 und 15 Monaten etwas bessere Ergebnisse als der Child-Pugh-Score, signifikante Unterschiede finden sich aber im Gegensatz zur Pilotstudie nicht (Reichel et al., 2000).

Der MELD-Score weist bezüglich der Kurzzeitmortalität die größte Fläche unter der ROC-Kurve auf: MELD  $AUC_{6 \text{ Monate}} = 0,79$ . Die AUC des Child-Pugh-Scores ist niedriger: Child  $AUC_{6 \text{ Monate}} = 0,72$ ; auch hier finden sich jedoch keine signifikanten Unterschiede.

Die Ergebnisse der 15-Monatsanalyse ergeben ähnliche Werte: der MELD-Score weist ebenfalls die größte AUC auf, gefolgt vom Child-Pugh-Score. Zudem fanden wir einen signifikanten Unterschied bei dem Vergleich des MELD-Scores mit dem Christensen-Score. Hier stellt sich der MELD-Score als signifikant besser heraus. Verschiedene andere Studien haben den Child- und MELD-Score mittels ROC-Analyse verglichen.

In einem Prognosezeitraum von bis zu 12 Monaten waren die beiden Scores in Studien von Angermayr und Mitarbeitern sowie Botta und Mitarbeitern gleich gut; Schepke und Mitarbeiter fanden an einem Kollektiv von TIPS-Patienten analog zu unseren Ergebnissen eine Überlegenheit des MELD-Scores in der Mittel- und Langzeitprognose, die jedoch ebenfalls keine statistische Signifikanz erreichte (Angermayr et al., 2003; Botta et al. 2003; Schepke et al., 2003).

Unsere Ergebnisse zeigen, dass es sich bei sTNF-R75 um einen viel versprechenden neuen Prognosefaktor bei Patienten mit Leberzirrhose ohne akute Infektionen handelt, der unabhängig von der Genese der Leberzirrhose ist. Naveau und Mitarbeiter und von Baehr und Mitarbeiter stellten ebenfalls erhöhte Serumspiegel von sTNF-R55 und sTNF-R75 fest, diese Ergebnisse beziehen sich jedoch ausschließlich auf Patienten mit alkoholischer Lebererkrankung (von Baehr et al., 2000; Naveau et al., 1998). Bei unserem Kollektiv handelt es sich analog zur Pilotstudie von Reichel und Mitarbeitern um ein gemischtes Kollektiv, welches zu fast 60% aus Patienten mit alkoholtoxisch induzierter Leberzirrhose besteht (Reichel et al., 2000).

Es wurde daher zusätzlich mit Hilfe einer Subgruppenanalyse untersucht, inwieweit die Ergebnisse dieser Studie abhängig von dem hohen Prozentsatz an alkoholtoxisch bedingten Leberzirrhosen sind. Dabei konnte festgestellt werden, dass sich sowohl in Bezug auf die Resultate der sTNF-R75- als auch der Score-Untersuchungen in den Untergruppen „Alkoholgenese“ und „andere Genese“ keine signifikanten Unterschiede ergeben. Im Gegensatz zu den von Naveau und Mitarbeitern gefundenen Ergebnissen zeigt sich in unserer Studie sogar die Tendenz zu besseren prognostischen Wertigkeiten in der Gruppe der Nicht-Alkoholiker (Tabelle 20) (Naveau et al., 1998).

Zusammenfassend konnte in dieser Studie gezeigt werden, dass die sTNF-R75 Serumkonzentration bei Patienten mit Leberzirrhose ohne akute Infektion ein viel versprechender, ätiologieunabhängiger Prognoseparameter ist, der eine gute prognostische Wertigkeit in Bezug auf das 6-Monats-Überleben der Patienten zeigt. Die Ergebnisse der Pilotstudie von Reichel und Mitarbeitern kann somit bestätigt werden (Reichel et al., 2000).



## Zusammenfassung

Fasst man die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zusammen, so kann man feststellen, dass die sTNF-R75 Serumkonzentrationen von den untersuchten Einzelparametern das Überleben der Patienten in einem kurz- und mittelfristigen Prognosezeitraum am besten voraussagen. Beim Vergleich der diagnostischen Wertigkeit des löslichen TNF-Rezeptors sTNF-R75 mit dem aus mehreren Einzelparametern zusammengesetzten MELD-Score zeigt sich, dass sTNF-R75 als gleichwertig anzusehen ist. Interessanterweise waren in dieser Studie sowohl sTNF-R75 als auch der MELD-Score dem Child-Pugh-Score tendenziell überlegen, es fanden sich jedoch keine signifikanten Unterschiede.

Zusätzlich wurden sTNF-R75 Serumkonzentrationen in den Subkollektiven der Patienten mit äthyltoxisch-bedingter Leberzirrhose und Patienten mit nicht-äthyltoxischer Leberzirrhose miteinander verglichen. Die Resultate dieser Untersuchungen zeigten, dass die prognostische Wertigkeit der sTNF-R75 Serumkonzentrationen unabhängig von der Ätiologie war.

Bei dem von uns untersuchten Gesamtkollektiv (Child A: 18, Child B: 36, Child C: 38) lag die AUC (AUC – Area under the Curve) der ROC-Analyse für das 6-Monats-Überleben bei 0,74. Dieser Wert war deutlich niedriger als die in der Pilotstudie (Child A: 10, Child B: 10, Child C: 10) bestimmte AUC von 0,96. Es muss jedoch bedacht werden, dass sich die in unsere Studie eingeschlossenen Patienten anteilmäßig in einem deutlich fortgeschrittenerem Stadium der Erkrankung befanden. Vergleicht man die AUC der ROC-Kurven von Child A und Child B Patienten mit dem Ergebnis der ROC-Analyse in der Pilotstudie, so zeigt sich, dass die Resultate vergleichbar sind (AUC Child A und Child B: 0,84 vs. AUC Pilotstudie: 0,96).

Dieses Ergebnis weist darauf hin, dass sTNF-R75 Serumkonzentrationen insbesondere bei Patienten, die nach der Child-Pugh-Klassifikation in die Gruppen A und B eingeteilt wurden, eine gute prognostische Wertigkeit besitzt.

Letztendlich zeigen unsere Daten, dass die Serumkonzentration von sTNF-R75 bei Patienten mit Leberzirrhose ohne akute Infektion ein viel versprechender, ätiologie-unabhängiger, prognostischer Marker ist. Weiterhin ist der Einzelparameter sTNF-R75 dem derzeit als Prognosescore eingesetzten MELD-Score bei der von uns untersuchten Patientenzahl als gleichwertig anzusehen.

## Literaturverzeichnis

Angermayr, B., Cejna, M., Karnel, F., Gschwantler, M., Koenig, F., Pidlich, J., Mendel, H., Pichler, L., Wichlas, M., Kreil, A., 2003. Child-Pugh versus MELD score in predicting survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunt. *Gut* 52:879-885.

von Baehr, V., Docke, W.D., Plauth, M., Liebenthal, C., Kupferling, S., Lochs, H., Baumgarten, R., and Volk, H.D. 2000. Mechanisms of endotoxin tolerance in patients with alcoholic liver cirrhosis: role of interleukin 10, interleukin 1 receptor antagonist, and soluble tumour necrosis factor receptors as well as effector cell desensitisation. *Gut* 47:281-287.

Bemelmans, M.H., Gouma, D.J., and Buurman, W.A. 1993. Influence of nephrectomy on tumor necrosis factor clearance in a murine model. *J Immunol* 150:2007-2017.

Bemelmans, M.H., Gouma, D.J., and Buurman, W.A. 1993. LPS-induced sTNF-receptor release in vivo in a murine model. Investigation of the role of tumor necrosis factor, IL-1, leukemia inhibiting factor, and IFN-gamma. *J Immunol* 151:5554-5562

Botta, F., Giannini, E., Romagnoli, P., Fasoli, A., Malfatti, F., Chiarbonello, B., Testa, E., Risso, D., Colla, G., and Testa, R. 2003. MELD scoring system is useful for predicting prognosis in patients with liver cirrhosis and is correlated with residual liver function: a European study. *Gut* 52:134-139.

Butt, A.K., Khan, A.A., Alam, A., Shah, S.W., Shafqat, F., and Naqvi, A.B. 1998. Predicting hospital mortality in cirrhotic patients: comparison of Child-Pugh and Acute Physiology, Age and Chronic Health Evaluation (APACHE III) scoring systems. *Am J Gastroenterol* 93:2469-2475.

Byl, B., Roucloux, I., Crusiaux, A., Dupont, E., and Deviere, J. 1993. Tumor necrosis factor alpha and interleukin 6 plasma levels in infected cirrhotic patients. *Gastroenterology* 104:1492-1497.

Chatzicostas, C., Roussomoustakaki, M., Notas, G., Vlachonikolis, I.G., Samonakis, D., Romanos, J., Vardas, E., and Kouroumalis, E.A. 2003. A comparison of Child-Pugh, APACHE II and APACHE III scoring systems in predicting hospital mortality of patients with liver cirrhosis. *BMC Gastroenterol* 3:7.

Schlichting, P., Andersen, P.K., Fauerholdt, L., Schou, G., Pedersen, B.V., Juhl, E., Poulsen, H., and Tygstrup, N. 1986. Updating prognosis and therapeutic effect evaluation in cirrhosis with Cox's multiple regression model for time-dependent variables. *Scand J Gastroenterol* 21:163-174.

Christensen, E. 1997. Prognostic models in chronic liver disease: validity, usefulness and future role. *J Hepatol* 26:1414-1424.

Conn, H.O.. 1981. A peek at the Child-Turcotte classification. *Hepatology* 1: 673-676.

Cope, A.P., Aderka, D., Wallach, D., Kahan, M., Chu, N.R., Brennan, F.M., and Feldmann, M. 1995. Soluble TNF receptor production by activated T lymphocytes: differential effects of acute and chronic exposure to TNF. *Immunology* 84:21-30

Diez-Ruiz, A., Tilz, G.P., Zangerle, R., Baier-Bitterlich, G., Wachter, H., and Fuchs, D. 1995. Soluble receptors for tumour necrosis factor in clinical laboratory diagnosis. *Eur J Haematol* 54:1-8

Froon, A.H., Bemelmans, M.H., Greve, J.W., van der Linden, C.J., and Buurman, W.A. 1994. Increased plasma concentrations of soluble tumor

necrosis factor receptors in sepsis syndrome: correlation with plasma creatinine values. *Crit Care Med* 22:803-809.

Gerbes, A.L., Gülberg, V., Bilzer, M. and Vogeser, M. 2002. Evaluation of serum cystatin C concentration as a marker of renal function in patients with cirrhosis of the liver. *Gut* 50: 106-110

Giannini, E., Botta, F., Fumagalli, A., Malfatti, F., Testa, E., Chiarbonello, B., Polegato, S., Bellotti, M., Milazzo, S., Borgonovo, G. 2004. Can inclusion of serum creatinine values improve the Child-Turcotte-Pugh score and challenge the prognostic yield of the model for end-stage liver disease score in the short-term prognostic assessment of cirrhotic patients? *Liver Int* 24:465-470.

Giron-Gonzalez, J.A., Martinez-Sierra, C., Rodriguez-Ramos, C., Macias, M.A., Rendon, P., Diaz, F., Fernandez-Gutierrez, C., and Martin-Herrera, L. 2004. Implication of inflammation-related cytokines in the natural history of liver cirrhosis. *Liver Int* 24:437-445.

Halwachs, G., Tiran, A., Reisinger, E.C., Zach, R., Sabin, K., Folsch, B., Lanzer, H., Holzer, H., and Wilders-Truschnig, M. 1994. Serum levels of the soluble receptor for tumor necrosis factor in patients with renal disease. *Clin Investig* 72:473-476.

Hanley, J.A., McNeil, B.J. 1983. A method of comparing the areas under receiver operating characteristic curves derived from the same cases. *Radiology* 148:839-843.

Kamath, P.S., Wiesner, R.H., Malinchoc, M., Kremers, W., Therneau, T.M., Kosberg, C.L., D'Amico, G., Dickson, E.R., and Kim, W.R. 2001. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology* 33:464-470.

Kaplan, E.L., Meier, P. 1958 Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Ass* 53: 457-481

Lee, F.Y., Lu, R.H., Tsai, Y.T., Lin, H.C., Hou, M.C., Li, C.P., Liao, T.M., Lin, L.F., Wang, S.S., and Lee, S.D. 1996. Plasma interleukin-6 levels in patients with cirrhosis. Relationship to endotoxemia, tumor necrosis factor-alpha, and hyperdynamic circulation. *Scand J Gastroenterol* 31:500-505.

Muños, L., Albillos, A., Nieto, M., Reyes, E., Lledó, L., Monserrat, J., Sans, E., de la Hera, A., and Alvarez-Mon, M. 2005. Mesenteric Th 1 polarization and monocyte TNF- $\alpha$  production: first steps to systemic inflammation in rats with cirrhosis. *Hepatology* 42: 411-419

Naveau, S., Emilie, D., Balian, A., Grangeot-Keros, L., Borotto, E., Portier, A., Giraud, V., Capron, F., Galanaud, P., and Chaput, J.C. 1998. Plasma levels of soluble tumor necrosis factor receptors p55 and p75 in patients with alcoholic liver disease of increasing severity. *J Hepatol* 28:778-784.

Oellerich, M., Burdelski, M., Lautz, H.U., Rodeck, B., Duewel, J., Schulz, M., Schmidt, F.W., Brodehl, J., and Pichlmayr, R. 1991. Assessment of pretransplant prognosis in patients with cirrhosis. *Transplantation* 51:801-806.

Pugh, R.N., Murray-Lyon, I.M., Dawson, J.L., Pietroni, M.C., and Williams, R. 1973. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg* 60:646-649.

Reichel, C., Sudhop, T., Braun, B., Kreuzer, K.A., Hahn, C., Look, M.P., von Bergmann, K., Sauerbruch, T., and Spengler, U. 2000. Elevated soluble tumour necrosis factor receptor serum concentrations and short-term mortality in liver cirrhosis without acute infections. *Digestion* 62:44-51.

Schepke, M., Roth, F., Fimmers, R., Brensing, K.A., Sudhop, T., Schild, H.H., and Sauerbruch, T. 2003. Comparison of MELD, Child-Pugh, and Emory

model for the prediction of survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunting. *Am J Gastroenterol* 98:1167-1174.

Serra, M.A., Puchades, M.J., Rodriguez, F., Escudero, A., del Olmo, J.A., Wassel, A.H., and Rodrigo, J.M. 2004. Clinical value of increased serum creatinine concentration as predictor of short-term outcome in decompensated cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* 39:1149-1153.

Spengler, U., Zachoal, R., Gallati, H., Jung, M.C., Hoffmann, R., Riethmuller, G., and Pape, G. 1996. Serum levels and in situ expression of TNF-alpha and TNF-alpha binding proteins in inflammatory liver diseases. *Cytokine* 8:864-872

Stickle, D., Cole, B. and Hock, K. 1998. Correlation of plasma concentrations of cystatin C and creatinine to inulin clearance in a pediatric population. *Clin Chem* 44: 1334-1338

Tilg, H., Wilmer, A., Vogel, W., Herold, M., Nolchen, B., Judmaier, G., and Huber, C. 1992. Serum levels of cytokines in chronic liver diseases. *Gastroenterology* 103:264-274.

## **Danksagung**

An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater, Herrn Privatdozent Dr. med. Christoph Reichel, für die Überlassung des Themas danken. Durch seine hervorragende Betreuung während aller Abschnitte der Arbeit waren auch die schwierigen Phasen zu bewältigen.

Herrn Professor Dr. Spengler möchte ich danken, dass er es mir ermöglicht hat, in seinem Immunologischen Labor die Messungen der löslichen TNF-Rezeptoren und Zytokine durchzuführen.

Herrn PD Dr. Thomas Sudhop danke ich für seine Ratschläge in Bezug auf Statistikfragen, die mir insbesondere für die ROC-Analysen und die multivariate Regressionsanalyse eine große Hilfe waren.

Des Weiteren möchte ich Herrn Dr. Markus Neef für seine Betreuung danken, dessen Zeit und voller Unterstützung ich mir während seiner Zeit an der Medizinischen Klinik I der Universität Bonn immer sicher sein konnte.

Ferner danke ich von der Medizinischen Klinik I der Universitätskliniken Bonn Frau Bammer, Herrn Dr. Georg Feldmann und dem Team des Immunologischen Labors, die mir während meiner Laborarbeit immer hilfsbereit zur Seite standen.

Frau Schneider im Chefsekretariat von Herrn Privatdozent Dr. Reichel in der Hartwald-Rehabilitationsklinik Bad Brückenau danke ich für ihre stets freundliche Unterstützung.

Frau Rosita Sowade danke ich schließlich nicht nur für die Durchsicht des Manuskripts, sondern auch für den mentalen Rückhalt in den letzten Jahren, auf den ich mich immer verlassen konnte.

Ganz besonderer Dank aber gilt meinen Eltern, die nicht nur während der Doktorarbeit, sondern von Beginn des Studiums an immer hinter mir gestanden haben, und deren Hilfe und Unterstützung mir in dieser Zeit einen unverzichtbaren Rückhalt geboten haben.