

Alpha1-Antitrypsinmangel Typ PiZ
im heterozygoten Erbgang – Risikofaktor für extrahepatische Malignome
und Verstärker des alkoholtoxischen Leberschadens?

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

Lena Marie Vössing
aus Siegburg

2011

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Hans-Peter Fischer
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Ulrich Spengler

Tag der Mündlichen Prüfung: 13.12.2010

Aus dem Institut für Pathologie der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. med. Reinhard Büttner

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	8
1 Einleitung.....	9
1.1 Histomorphologie des alkoholtoxischen Leberschadens	10
1.1.1 Steatose.....	10
1.1.2 Zellhydrops	10
1.1.3 Mallory-Denk-Hyalin	11
1.1.4 Entzündliches Infiltrat	11
1.1.5 Fibrose und Zirrhose	12
1.1.6 Siderose	13
1.2 Alkoholstoffwechsel	14
1.2.1 Die alkoholbedingte Leberzellschädigung	14
1.2.1.1 Stoffwechselzwischenprodukte.....	14
1.2.1.2. MEOS und CYP2E1- Induktion.....	15
1.2.2 Bedeutung von Dosis und Dauer des Alkoholkonsums	15
1.3 alpha1-Antitrypsinmangel Typ PiZ	16
1.3.1 Molekülstruktur und molekulare Genetik.....	17
1.3.2 Klinik.....	17
1.3.3 Diagnostik.....	19
1.3.4 Therapie	20
1.3.5 Pathogenese des alpha1-Antitrypsinmangel-assoziierten Leberschadens.....	20
1.3.6 alpha1-Antitrypsinmangel und maligne Tumorerkrankungen.....	22
1.4 Fragestellung	23
2 Patientenkollektiv, Matching und Methoden	23
2.1 Patientenkollektiv	23
2.2 Matching.....	24
2.3 Methoden.....	26
2.3.1 Histologische Färbungen	26
2.3.2 Immunhistochemische Färbung.....	26
2.3.3 Semiquantitative histologische Auswertung.....	26
2.3.3.1 Zellhydrops	27
2.3.3.2 Granulozytäres Infiltrat.....	28
2.3.3.3 Lymphozytäres Infiltrat	29
2.3.3.4 Verfaserung.....	31

2.3.3.5	Pigmentablagerungen und Verfettung der Hepatozyten.....	32
2.3.3.6	Mallory-Denk-Hyalin	32
2.3.3.7	alpha1-Antitrypsinablagerungen bei PiZ-Mutation.....	33
2.3.4	Genetische Analyse der PiZ-Mutation am Paraffinmaterial.....	34
2.3.4.1	Gewebepräparation und Extraktion der DNA.....	34
2.3.4.2	alpha1-Antitrypsin Sequenzierung	34
2.3.5	Analyse der Krankenakten.....	35
2.3.6	Statistik	37
3	Ergebnisse	38
3.1	Fragestellung „PiZ – Malignome“	38
3.2	Fragestellung „PiZ – Alkohol“	42
3.2.1	Histologische Befunde.....	42
3.2.1.1	Lymphozytäres Infiltrat	42
3.2.1.2	Granulozytäres Infiltrat.....	47
3.2.1.3	Fibrose (außer zentrilobulärer Fibrose)	49
3.2.1.4	Zentrilobuläre Fibrose	50
3.2.1.5	Verfettung	51
3.2.1.6	Gallepigment	52
3.2.1.7	Eisenablagerungen.....	53
3.2.1.8	Zellhydrops	55
3.2.2	Immunhistochemische Befunde.....	56
3.2.2.1	Ausmaß der PiZ-Ablagerungen.....	56
3.2.2.2	Form der PiZ-Ablagerungen	57
3.2.2.3	Mallory-Denk-Hyalin	58
3.2.3	Laborbefunde	59
3.2.3.1	Alkalische Phosphatase.....	59
3.2.3.2	γ-Glutamyl-Transferase	60
3.2.3.3	Glutamat-Oxalacetat-Transferase.....	61
3.2.3.4	Glutamat-Pyruvat-Transaminase.....	62
3.2.3.5	Cholinesterase	63
3.2.3.6	Bilirubin	64
3.2.3.7	Quick-Wert.....	65
3.2.3.8	C-reaktives Protein	66
3.2.4	Vergleichende Zusammenfassung relevanter Labor- und Histologiebefunde.....	67

3.2.5	Korrelationen	70
Tafel 1	72
Tafel 2	73
Tafel 3	74
4	Diskussion	75
4.1	„PiZ – Malignome“	75
4.2	„PiZ – Alkohol“	77
4.2.1	Entzündliche Infiltration.....	77
4.2.2	Fibrose und Zirrhose	78
4.2.3	alpha1-Antitrypsinablagerungen.....	80
4.2.4	Mallory-Denk-Hyalin	81
4.2.5	Transaminasen	82
4.2.6	Quick-Wert und Cholinesterase.....	82
4.2.7	Alkalische Phosphatase, Bilirubin und γ -Glutamyl-Transferase	83
4.2.8	Zygotiestatus.....	84
4.2.9	Abschließende Bewertung	84
5	Zusammenfassung	85
6	Anhang.....	87
7	Literaturverzeichnis	94
8	Danksagung	103
9	Lebenslauf.....	104

Abkürzungsverzeichnis

AAT	alpha1-Antitrypsin
ADH	Alkoholdehydrogenase
AP	Alkalische Phosphatase
BAP31	B-cell receptor-associated protein
CA	Karzinom
CCC	cholangiozelluläres Karzinom
CHE	Cholinesterase
COPD	chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CRP	C-reaktives Protein
CYP4502E1	Zytochrom P450 2E1
ER	endoplasmatisches Retikulum
EZM	extrazelluläre Matrix
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
γ -GT	γ -Glutamyl-Transferase
HCC	hepatozelluläres Karzinom
Il	Interleukin
MEOS	mikrosomales ethanoxidierendes System
MMPS	Matrix Metalloproteinasen
NASH	nichtalkoholische Steatohepatitis
NF κ B	nuclear factor kappaB
PCR	Polymerasekettenreaktion
Pi-System	Protease-Inhibitor-System (Klassifikationssystem der verschiedenen alpha1-Antitrypsinvarianten)
PiZ	Z-Mutation des alpha1-Antitrypsin
Serpine	Serin-Protease-Inhibitor
TGF	transforming growth factor
TNF-alpha	Tumor-Nekrose-Faktor-alpha
UPR	unfolded protein response

1 Einleitung

In Deutschland leben geschätzte 1,3 Mio. Alkoholabhängige und ca. 9,5 Mio. Menschen, die Alkohol in riskanten Mengen konsumieren (Bundesministerium für Gesundheit, 2009).

Alkohol selbst wirkt direkt hepatotoxisch (Lieber, 1979). Hinzukommen können weitere Einflussfaktoren, wie die chronische Hepatitis und genetisch determinierte Hepatosen, die das Ausmaß der Leberschädigung individuell differieren lassen. Vorläufige Untersuchungen lassen vermuten, dass auch der alpha1-Antitrypsinmangel einen aggravierenden Einfluss auf die alkoholtoxische Leberschädigung haben dürfte (Fischer et al., 2000).

Die Stoffwechselerkrankung alpha1-Antitrypsinmangel zählt zu einer der häufigsten in Europa (WHO, 1997). Die häufigste Variante ist die PiZ Mutation, die im heterozygoten Erbgang mit einer Prävalenz von etwa 2,8% in der deutschen Bevölkerung auftritt (Hummel, 1992). Heterozygote PiZ-Gen-Träger können ein Leben lang klinisch unauffällig bleiben; dennoch besteht bei ihnen insgesamt ein höheres Risiko für die Entwicklung eines chronischen Leberschadens (Eigenbrodt et al., 1997; Fischer et al., 2000; Graziadei et al., 1998).

Diese Arbeit befasst sich schwerpunktmäßig erstens mit dem Ausmaß der Leberschädigung unter dem Zusammentreffen der beiden pathogenen Faktoren Alkohol und alpha1-Antitrypsinmangel.

Der heterozygote PiZ Status ist ein Risikofaktor für die Entwicklung eines primären Leberkarzinoms (Zhou et al., 2000). Des Weiteren scheint ein Mangel an alpha1-Antitrypsin die Entstehung von Lungenkrebs zu begünstigen (Yang et al., 2008). Im zweiten Schwerpunkt dieser Arbeit untersuchen wir, ob auch andere maligne Tumorerkrankungen gehäuft bei AAT-Mangel-Patienten des Typ PiZ auftreten.

1.1 Histomorphologie des alkoholtoxischen Leberschadens

1.1.1 Steatose

Die Leberzellverfettung ist die früheste und häufigste morphologische Veränderung bei alkoholischer Leberschädigung. Die Verfettung beginnt läppchenzentral, in der Azinuszone 3, und breitet sich mit zunehmender Schädigung über das gesamte Leberläppchen aus. Enthält die Leberzelle einen großen Fetttropfen, der den Zellkern an den Rand drängt, spricht man von einer makrovesikulären (großtropfigen) Steatose; finden sich viele kleine Fetttropfen im Zytoplasma, ohne Verdrängung des Zellkerns, handelt es sich um eine mikrovesikuläre (kleintropfige) Steatose (Denk et al., 2001). Typisch für den chronischen Alkoholabusus ist das Bild einer gemischttropfigen Steatose mit sowohl mikro- als auch makrovesikulären hepatozytären Fetteinschlüssen (Hall, 2008; Klinge, 2000). Etwa 2-3% der Alkoholiker entwickeln eine vollständige Fettleber, bei der mindestens 50% der Hepatozyten verfettet sind (Hall, 2008; Klinge, 2000). Das Phänomen der Verfettung ist für sich alleine zunächst vollständig reversibel, stellt bei weiterem Einwirken der Noxe jedoch die Grundlage für die Entwicklung einer Steatohepatitis dar (Day und James, 1998). Das Bild einer Steatohepatitis - alkoholischer oder nichtalkoholischer Genese - zeichnet sich neben der Verfettung insbesondere aus durch hydropische Schwellung und Untergang von Hepatozyten, entzündliche Infiltrate sowie eine Fibrosierung des Leberparenchyms (Denk et al., 2001).

1.1.2 Zellhydrops

Ein weiteres histologisches Merkmal der alkoholbedingten Leberschädigung ist der sog. Zellhydrops mit einer Vergrößerung (Ballonierung) der Hepatozyten bis auf das Zehnfache der Norm (Hall, 2008; Klinge, 2000). Lichtmikroskopisch erkennt man eine verminderte Anfärbbarkeit des Zytoplasmas bei deutlichem Hervortreten der Zellgrenzen. Häufig enthalten derart ballonierte Hepatozyten Mallory-Denk-Bodies (s.u.) (Denk et al., 2001). Durch Schädigung der Zellmembran und des Zytoskeletts – insbesondere der Mikrotubuli – kommt es zu intrazellulären Fett- und Proteinansammlungen und somit zur Volumenzunahme der Zelle (Matsuda et al., 1985). Einerseits behindern die im Alkoholstoffwechsel entstehenden Metabolite die durch Mikrotubuli vermittelte Proteinsekretion (Miyakawa et al., 1985), andererseits kommt es zu einer Störung des proteasomalen Proteinabbaus (French, 2000). Die daraus resultierende vermehrte intrazelluläre Proteinansammlung zieht eine Wasserretention nach sich. Mikrotubuli sind außerdem an der Formgebung der Zelle beteiligt, sodass ihre Schädigung bzw. Verminderung eine Zellschwellung begünstigt. Eine starke

Ballonierung kann letztlich zum Untergang (Zytolyse) des Hepatozyten führen (Berman et al., 1983).

1.1.3 Mallory-Denk-Hyalin

Unter Mallory-Denk-Hyalin (Mallory-Denk-Bodies), benannt nach seinem Erstbeschreiber Frank B. Mallory (1911) und nach H. Denk, der deren Zusammensetzung aufschlüsselte, versteht man dichte Aggregate von nur elektronenmikroskopisch erkennbaren Filamenten des Zytoskeletts (Okanoue et al., 1985). Hauptsächlich handelt es sich hierbei um die Zytokeratine 8 und 18. Weitere Bestandteile der Mallory-Denk-Bodies sind Ubiquitin (Ohta et al., 1988), verschiedene Hitzeschockproteine (Riley et al., 2003) und das Stressprotein p62 (Zatloukal et al., 2002). Lichtmikroskopisch lassen sich unregelmäßig begrenzte eosinophile Ablagerungen nachweisen; im Falle einer alkoholtoxischen Schädigung sind insbesondere läppchenzentrale Hepatozyten betroffen (Hall, 2008; Klinge, 2000). Der immunhistochemische Nachweis von Mallory-Denk-Hyalin gelingt mittels Antikörpern entweder gegen verschiedene Zytokeratine (Ray, 1987; Yoshioka et al., 1989) oder gegen Ubiquitin-Protein-Komplexe; letztere Methode gilt als spezifischer und sensitiver (Ohta et al., 1988; Vyberg und Leth, 1991). Das Auftreten der Mallory-Denk-Bodies ist typisch für die alkoholtoxische Leberschädigung, allerdings nicht spezifisch. So findet man Mallory-Denk-Hyalin beispielsweise auch bei der nicht-alkoholischen Steatohepatitis, manchmal bei der primär biliären Zirrhose (MacSween, 1973) und beim M. Wilson (Sternlieb, 1972). Dennoch liegt der Mehrzahl der Fälle (71%) eine Alkoholschädigung zugrunde (Ray, 1987).

1.1.4 Entzündliches Infiltrat

Das entzündliche Infiltrat des alkoholbedingten Leberschadens ist charakteristischer Weise reich an neutrophilen Granulozyten. Diese finden sich insbesondere in unmittelbarer Umgebung ballonierter, Mallory-Denk-Hyalin enthaltender Hepatozyten (Scheuer und Lefkowitz, 2005). Eine mögliche Erklärung für die derartig konzentrierte Neutrophilenansammlung ist, dass Mallory-Denk-Hyalin enthaltende Zellen chemotaktische Faktoren sezernieren und so die Entzündungszellen anlocken (Peters et al., 1983). In verschiedenen Studien wurden eine erhöhte Produktion proinflammatorischer Zytokine wie TNF-alpha (McClain und Cohen, 1989), Interleukin-1 und Interleukin-6 nachgewiesen (Khoruts et al., 1991; Sheron et al., 1991). Erhöhte Endotoxinspiegel, die häufig bei Alkoholikern gefunden werden, sollen mitverantwortlich sein für die Aktivierung von

Kupffer-Zellen und der damit verbundenen Attraktion von neutrophilen Granulozyten (Thurman, 1998).

Makrophagen und Lymphozyten, vor allem CD4- und CD8-positive T-Lymphozyten, nehmen ebenfalls teil am Entzündungsgeschehen, spielen insgesamt aber eine eher untergeordnete Rolle (Colombat et al., 2002; Scheuer und Lefkowitz, 2005). Morphologisch liegt das Bild einer Alkoholhepatitis vor. Diese ist im Gegensatz zur reinen Steatose (s.o.) nur begrenzt reversibel und schreitet zur Leberzirrhose fort. Die Ausbildung der Entzündungsreaktion ist somit der entscheidende Schritt, mit dem die Progression des Leberschadens determiniert wird (Lalor et al., 2007).

1.1.5 Fibrose und Zirrhose

Eine zentrale Rolle bei der Entwicklung von Fibrose bzw. Zirrhose spielt die Aktivierung von hepatischen Sternzellen. Insbesondere das Zytokin TGF- β 1, dessen Expression bei alkoholischer Leberschädigung gesteigert ist, ist hierbei von Bedeutung: Einerseits führt TGF- β 1 zur Umwandlung der Sternzellen in Kollagen produzierende Myofibroblasten, andererseits kommt es unter seinem Einfluss zu einer verminderten Bildung von Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) durch die Sternzellen (McClain et al., 2004). Das hieraus resultierende Ungleichgewicht zwischen Produktion und Abbau von extrazellulärer Matrix ist die Ausgangsbasis der Fibrogenese. Weitere Zytokine, die bei der Fibrogenese eine Rolle spielen, sind u.a. TNF-alpha, IL-6 und IL-10 (McClain et al., 2004). Zusätzlich stimulieren Produkte der Lipidperoxidation und oxidativer Stress die hepatische Faservermehrung (Denk et al., 2001).

Im Frühstadium der alkoholtoxischen Leberschädigung kommt es zur Ausbildung perizellulärer, perisinusoidaler und perivenöser Fibrosen (Denk et al., 2001). Bei Fortschreiten der Fibrose bilden sich auch zwischen benachbarten Portalfeldern (portoportal) sowie zwischen Portalfeldern und Zentralvenen (portozentral) bindegewebige Septen aus und untergliedern das Leberparenchym zunehmend irregulär (Denk et al., 2001). Mit der Zerstörung der normalen Läppchenarchitektur wird die Entstehung der Zirrhose eingeleitet (Hall, 2008; Klinge, 2000). Als Zeichen einer regenerativen Hyperplasie entstehen Regeneratknötchen, die vollständig von Bindegewebe umgeben sind. Unter chronischem Alkoholabusus entwickelt sich meist eine mikronoduläre Zirrhose, deren gleichförmige Regeneratknötchen einen Durchmesser von unter 3 mm haben (Lee, 1966). Bei Alkoholabstinenz kann die Zirrhose auch makronodulär werden mit Knoten von z.T. mehreren Zentimetern Durchmesser (Fauerholdt et al., 1983). Durch die vermehrten

Kollagenfaserablagerungen kommt es zur Zerstörung der Gefäßarchitektur und zur Bildung intrahepatischer Shunts zwischen Portalgefäßen und Lebervenen; es resultiert eine Minderperfusion der Leber. Des Weiteren differenzieren Lebersinusoiden zu geschlossenen Kapillarendothelien um, was den Stoffaustausch zwischen Blut und Hepatozyt zusätzlich erschwert (Ishak et al., 1991). Die Leberfibrose stellt keinen absolut irreversiblen Zustand dar, sondern kann sich bei Absetzen der Noxe in Grenzen zurückbilden; z.T. scheint eine partielle Rückbildung der Verfaserung sogar bei manifester Zirrhose noch möglich zu sein (Kumar und Sarin, 2007).

1.1.6 Siderose

Eisenablagerungen in Hepatozyten und Kupffer-Zellen sind häufig zu finden in alkoholtoxisch geschädigten Lebern. In der Mehrzahl der Fälle handelt es sich allerdings um eine milde Siderose (Jakobovits et al., 1979), sodass nur eine Siderose Grad 1 oder 2 als alkoholische Siderose bezeichnet werden kann. Bei Patienten mit massiven Eisenablagerungen (Grad 3 bzw. 4) sollte an eine koinzidente Hämochromatose gedacht werden (Le Sage et al., 1983). Unabhängig von ihrer Genese scheint eine Eisenüberladung der Leber die Schädigung des Organs zu potenzieren (Powell et al., 1995). So konnte in Tierversuchen gezeigt werden, dass sich unter Eisengabe eine alkohol- oder hepatotoxinbedingte Fibrose bzw. Zirrhose weiter verschlechtert (Mackinnon et al., 1995). Mögliche Mechanismen hierfür könnten eine vermehrte Lipidperoxidation mit Schädigung hepatozellulärer Organellen wie Mitochondrien und Lysosomen sein, sowie eine eiseninduzierte Aktivierung von Sternzellen zu Kollagen-produzierenden Myofibroblasten (Ramm und Ruddell, 2005).

1.2 Alkoholstoffwechsel

Der Großteil des Alkohols wird in der Leber verstoffwechselt; nur etwa 5% werden im Urin, im Schweiß und über die Atemluft ausgeschieden. Nach der Resorption erfolgt in den Hepatozyten der Abbau von Alkohol zum hochtoxischen Acetaldehyd. Für diese erste Oxidation stehen drei verschiedene katalytische Systeme zur Verfügung: die zytosolische Alkoholdehydrogenase (ADH), das mikrosomale ethanoloxidierende System (MEOS) und die in den Peroxisomen lokalisierte Katalase (Lieber, 1993).

Unter physiologischen Bedingungen katalysiert die ADH den größten Teil des Alkoholabbaus zu Acetaldehyd. Durch den vermehrten Ethanolanfall bei chronischem Alkoholabusus werden die Kapazitäten der ADH jedoch überschritten und das MEOS gewinnt an Bedeutung (Hall, 2008). Die Katalase übernimmt nur etwa 2% des Alkoholabbaus (Lieber, 1993); allerdings scheint auch ihre Aktivität bei vermehrtem Ethanolanfall zuzunehmen (De Craemer et al., 1996). Das Acetaldehyd wird normalerweise rasch durch die mitochondriale Aldehyddehydrogenase weiteroxidiert zu Acetat. Ein Teil des Acetaldehyds und der Großteil des Acetats gelangen von der Leber ins Blut und werden peripher weitermetabolisiert (Hall, 2008). Bei Personen mit chronischem Alkoholmissbrauch sowie bei Ostasiaten ist die Aktivität der Aldehyddehydrogenase jedoch reduziert. Dies bedingt eine erhöhte Alkoholtoxizität (De Luca und Gysling, 2001).

1.2.1 Die alkoholbedingte Leberzellschädigung

1.2.1.1 Stoffwechselzwischenprodukte

Die Leberzellschädigung bei Alkoholikern ist u.a. zurückzuführen auf einen vermehrten Anfall von Stoffwechselzwischenprodukten des Ethanolabbaus. Von Bedeutung sind hier die durch die Alkoholdehydrogenase gebildeten Reduktionsäquivalente: Diese setzen die hepatische Fettsäureoxidation herab und steigern die Bildung von α -Glycerophosphat, Fettsäuren und folglich Triacylglycerinen. Die Entstehung der alkoholisch bedingten Fettleber wird auf diese Prozesse zurückgeführt (Löffler, 1998).

Auch das im Ethanolabbau anfallende Acetaldehyd selbst ist verantwortlich für Zellschäden: Acetaldehyd hat sowohl die Fähigkeit mit Proteinen Addukte zu bilden als auch eine Vernetzung von Proteinen untereinander zu bewirken (Donohue et al., 1983; Gaines et al., 1977). Derartige Acetaldehyd-Protein-Addukte haben eine direkt schädigende Wirkung auf hepatozelluläre Enzymsysteme, das Zytoskelett und regulatorische Proteine (Jennett et al.,

1990). Da die Addukte vom Immunsystem als fremd erkannt werden, kann es außerdem zu einer immunologischen Reaktion kommen, die den Leberschaden zusätzlich unterhält (Israel et al., 1986). Des Weiteren führt Acetaldehyd zur Bildung reaktiver Sauerstoffspezies, die durch eine Verstärkung der Lipidperoxidation ebenfalls die Integrität von Membranen schädigen und Zellfunktionen stören (Löffler, 1998).

1.2.1.2 MEOS und CYP2E1- Induktion

Im Rahmen des im endoplasmatischen Retikulum lokalisierten MEOS kommt dem Isoenzym Zytochrom P-450 2E1 (CYP2E1) eine besondere Rolle zu, da seine Expression unter regelmäßigem Alkoholkonsum zunimmt (Lieber und DeCarli, 1970; Koop et al., 1982). Die ethanolbedingte Induktion von CYP2E1 ist ein zentraler Mechanismus, durch den Alkohol einen Zustand von oxidativem Stress in der Zelle generiert (Wu und Cederbaum, 2005). Auf zellulärer Ebene werden infolge der CYP2E1-Induktion verschiedene Veränderungen beobachtet: Es kommt zur Produktion freier Radikale und einem Anstieg der Lipidperoxidation mit Membranschädigungen und Störungen von Zellfunktionen (Albano et al., 1996). Weiterhin wird durch den oxidativen Stress auch der Ubiquitin-Proteasom-Komplex in seiner proteolytischen Funktion gehemmt, sodass es zur Akkumulation von zum Abbau vorgesehenen Proteinen kommt (Bardag-Gorce et al., 2000; Gouillon et al., 1999). Die Hemmung des Ubiquitin-Proteasom-Pfades durch CYP2E1 könnte durch den unzureichenden Proteinabbau mitverantwortlich sein für die Vergrößerung von Leberzellen bei der alkoholischen Lebererkrankung (French et al., 2001). Der Ubiquitin-Proteasom-Komplex ist auch für den Umsatz von Zytokeratinen verantwortlich (Ku und Omary, 2000), sodass seine ethanolbedingte Funktionsminderung eine Überladung der Leberzelle mit Zytokeratinen zur Folge hat. Die Bildung von Mallory-Denk-Bodies, als Aggregate von ubiquitinierten Zytokeratinen, ist möglicherweise hierauf zurückzuführen (Bardag-Gorce et al., 2001). Chronischer Alkoholismus führt über die Induktion des Enzyms CYP2E1 zu einer Beschleunigung des Ethanolabbaus und damit zu einer erhöhten Alkoholtoleranz bei regelmäßigen Trinkern (Lieber und DeCarli, 1970).

1.2.2 Bedeutung von Dosis und Dauer des Alkoholkonsums

Das Risiko alkoholbedingte Gesundheitsschäden zu erleiden ist individuell unterschiedlich, da endogene Faktoren wie die genetische Prädisposition, Alter und Geschlecht die Pathogenese beeinflussen. Frauen sind im Allgemeinen susceptibler als Männer (Mishra et al., 1989; Thurman, 1998). Als risikoarmer Konsum gilt eine tägliche Ingestion von bis zu 20g

Reinalkohol für Frauen und bis zu 40g für Männer. Bei darüber hinausgehenden Mengen spricht man von riskantem bzw. gefährlichem Konsum (Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen e.V., 2008).

Die Aufnahme von mehr als 60-70g Alkohol pro Tag für Männer bzw. 20-30g für Frauen über einen Zeitraum von mindestens fünf Jahren, gilt als Risikofaktor für die Entwicklung einer Leberzirrhose. Etwa 20-30% aller chronischen Alkoholiker erreichen dieses Endstadium (Kuntz und Kuntz, 2006).

1.3 alpha1-Antitrypsinmangel Typ PiZ

Der alpha1-Antitrypsinmangel (AAT-Mangel) ist eine der häufigsten genetisch bedingten Stoffwechselerkrankungen unter Europäern und Amerikanern europäischer Abstammung. Die häufigste pathologische Variante ist das PiZ-Allel, das bei ca. 95% aller AAT-Mangel-Patienten vorliegt (Zhou, 2000). Die PiZ-Allelfrequenz weist geographische Unterschiede im Sinne eines abnehmenden Nord-Süd-Gefälles auf und ist am höchsten in skandinavischen Ländern (Norman et al., 1997). In der deutschen Bevölkerung tritt der heterozygote PiZ-Status mit einer Prävalenz von etwa 2-3% auf (Hummel, 1992).

Das Glykoprotein alpha1-Antitrypsin (AAT), das 85% der α 1-Globuline in der Elektrophorese ausmacht, ist der wichtigste Proteinase-Inhibitor im Serum. Seine wohl bedeutsamste physiologische Funktion ist die Inaktivierung der neutrophilen Elastase in der Lunge (Perlmutter, 1998). Alpha1-Antitrypsin wird hauptsächlich in der Leber gebildet und auch als Akut-Phase-Protein bezeichnet, da seine Plasmaspiegel bei entzündlichen Prozessen ansteigen (Rudnick und Perlmutter, 2005). Unter dem Einfluss von Interleukin 6 (IL-6), das die Transkription des Enzyms in Leberzellen und Makrophagen reguliert, kommt es zu einer gesteigerten Expression von alpha1-Antitrypsin. Des Weiteren erhöhen Endotoxine und das Substrat selbst, die Elastase, die AAT-Produktion in Makrophagen (Perlmutter et al., 1989).

Huang et al. (2004) zeigten, dass alpha1-Antitrypsin eine hemmende Wirkung auf die Angiogenese ausübt und außerdem die Apoptose in Tumorendothelien steigert.

1.3.1 Molekülstruktur und molekulare Genetik

Alpha1-Antitrypsin, ein klassischer Vertreter der Familie der **Serin-Protease-Inhibitoren** (Serpine) (Huber und Carrell, 1989), zeigt in seiner Tertiärstruktur 23 Höhlen, die essentiell für die enzymatische Funktion des Moleküls sind. Kommt es durch Genmutationen zum Auffüllen dieser Höhlen und zu einer Stabilisierung des normalerweise flexiblen Proteins, wird die inhibitorische Aktivität des Enzyms gestört (Lee et al., 2001).

Das alpha1-Antitrypsin-Gen ist auf dem Chromosom 14q32.1 lokalisiert (Billingsley et al., 1993) und wird kodominant vererbt, sodass beide elterlichen Allele den Phänotyp bestimmen (Darlington et al., 1982). Die codierten Proteine - Wildtyp oder Mutante - werden im sogenannten **Pi-System (Protease-inhibitor-System)** in Abhängigkeit von ihrer Wanderungsgeschwindigkeit in der Elektrophorese folgendermaßen erfasst: Der Großbuchstabe „S“ (slow) kennzeichnet Proteine mit langsamer, „M“ (medium) mit mittlerer, „F“ (fast) mit schneller und „Z“ (zero) mit fehlender Wanderungsgeschwindigkeit (Fagerhol, 1968). Die Wildtypen M1-M5 kodieren für ein normofunktionelles alpha1-Antitrypsinmolekül. Die häufigste Variante mit klinisch-pathologischer Relevanz, das PiZ-Allel, ist das Resultat einer Punktmutation, die zum Austausch von Glutamat gegen Lysin an Position 342 des AAT-Proteins führt (Brantly et al., 1988; Norman et al., 1997). Durch diese Mutation verändert sich die Quartärstruktur des AAT-Proteins derart, dass Einzelmoleküle polymerisieren und die entstandenen Polymerisationsprodukte im endoplasmatischen Retikulum (ER) zurückgehalten werden (Verbanac und Heath, 1986). Perlmutter et al. (2007) weisen darauf hin, dass die Polymerisation des Proteins möglicherweise aber auch erst Folge der AAT-Retention im ER sein könnte. Welche Theorie auch immer der Realität entsprechen mag, in jedem Fall kommt es zu einer verminderten Sekretion und damit zu einem Mangel an funktionstüchtigem AAT im Serum.

1.3.2 Klinik

Der alpha1-Antitrypsinmangel kann klinisch unauffällig bleiben. Kommt es zu pathologischen Organmanifestationen, betreffen diese vor allem die Lunge, gefolgt von der Leber (WHO, 1997). In der Lunge manifestiert sich der Enzymmangel am häufigsten in Form einer chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD) und eines panazinären Emphysems (Larsson, 1978). Radiologische Zeichen eines Lungenemphysems finden sich bei ungefähr 85% aller homozygoten PiZ-Träger (Gishen, 1982), wobei von pathologischen Veränderungen vor allem die unteren Lungenfelder betroffen sind (Brantly et al., 1988). Insbesondere Raucher mit homozygotem PiZ-Status haben ein großes Risiko für die

Entwicklung einer Lungenerkrankung und eine deutlich reduzierte Lebenserwartung (Larsson, 1978). AAT-Mangel-Patienten, die ein Leben lang Nichtraucher waren, entwickeln nur selten Symptome einer Lungenerkrankung vor der fünften Dekade (Tobin et al., 1983). Heterozygote Allel-Träger vom Typ PiMZ weisen ein allenfalls gering erhöhtes Risiko für die Erkrankung an einer COPD bzw. an einem Lungenemphysem auf (Hersh et al., 2004; Tattersall et al., 1979). Ursächlich für die Lungenschädigung bei AAT-Mangel ist die fehlende bzw. verminderte Hemmung der neutrophilen Elastase und die dadurch bedingte proteolytische Andauung des Lungengewebes. Elliot et al. (1998) konnten zeigen, dass mutiertes alpha1-Antitrypsin in der Lunge selbst Polymere bildet wodurch sich die Konzentration an freiem, funktionellem AAT weiter verringert. Zusätzlich wirkt polymerisiertes AAT stark chemotaktisch auf neutrophile Granulozyten und ruft so ein dauerhaftes Entzündungsgeschehen in der Lunge hervor (Mulgrew et al., 2004).

In der Leber, als primärem Ort der AAT-Produktion, wird die Retention des mutierten alpha1-Antitrypsinmoleküls Typ PiZ im endoplasmatischen Retikulum der Hepatozyten für die Organschädigung verantwortlich gemacht (Perlmutter, 2002). Klinisch kann die Leberbeteiligung bei homozygotem AAT-Mangel in den ersten ein bis zwei Lebensmonaten durch einen prolongierten Neugeborenenikterus auffallen. Möglich sind weiterhin eine Erhöhung der Transaminasen und des konjugierten Bilirubins sowie eine Vergrößerung der Leber. Diese Symptomatik wird auch mit dem Begriff „neonatales Hepatitis Syndrom“ beschrieben (Perlmutter, 1998). Bei ungefähr 10% der homozygoten PiZ-Patienten kommt es schon in der frühen Kindheit zu klinisch relevanten Leberfunktionsstörungen (Sveger, 1984). Im Erwachsenenalter prädisponiert der homozygote PiZ-Status für die Entwicklung einer Leberzirrhose sowie eines primären Leberkarzinoms (Eriksson et al., 1986; Eriksson, 1987). Heute ist bekannt, dass selbst die heterozygote Form des AAT-Mangels Typ PiZ einen unabhängigen Risikofaktor für die Entwicklung einer Leberzirrhose und eines chronischen Leberversagens darstellt (Eigenbrodt et al., 1998; Graziadei et al., 1998). Zhou und Fischer (2000) zeigten, dass dieses Risiko auch für die Entstehung primärer Leberkarzinome gilt. PiZ-assoziierte Leberkarzinome weisen häufig eine cholangiozelluläre oder kombiniert hepatozellulär-cholangiozelluläre Differenzierung auf. Derartige Karzinome entstehen in der Regel nicht auf dem Boden einer Zirrhose (Zhou und Fischer, 2000). Leberzirrhose und Leberkarzinom betreffen mindestens 25% der homozygoten AAT-Mangel-Patienten über 50 Jahre (WHO, 1997). Das Risiko einer PiZ-assoziierte Leberschädigung ist für Männer signifikant größer als für Frauen (Eriksson et al., 1986).

1.3.3 Diagnostik

Bei vermeintlich kryptogenen Lungen- oder Lebererkrankungen, pathologisch veränderten Leberenzymwerten unklarer Ursache oder einer verminderten α 1-Globulin-Fraktion in der Elektrophorese sollte an die Möglichkeit eines alpha1-Antitrypsinmangels gedacht werden.

Die Bestimmung des AAT-Spiegels im Serum homozygoter Patienten kann einen Hinweis auf eine PiZ-Mutation geben und ist die einfachste Screeninguntersuchung. Allerdings ist zu bedenken, dass die Konzentration des alpha1-Antitrypsins als Akut-Phase-Protein bei Entzündungen und bei malignen Tumorerkrankungen erhöht ist. Unter diesen Bedingungen können bei heterozygoten PiZ-Patienten normwertige oder gar erhöhte Serumkonzentrationen gemessen werden, die den eigentlichen AAT-Mangel kaschieren (Zhou, 2000). Diese Fehlerquelle besteht auch bei der Bestimmung der α 1-Globulinfraktion in der Serumelektrophorese, sodass auch anhand dieser Methode ein AAT-Mangel nicht sicher ausgeschlossen werden kann.

Je nach Phänotyp finden sich unterschiedliche AAT-Plasmaspiegel.

Phänotyp	Plasmaspiegel (μ M/l)
MM (medium)	20-53
MZ (medium/zero)	12-28
SS (slow)	13-27
SZ (slow/zero)	10-16
ZZ (zero)	2,5-7

Alpha-1 Association, 2009

Tab. 1: Die häufigsten AAT-Varianten und ihre Plasmaspiegel

Der Phänotyp wird heute meist mit der isoelektrischen Fokussierung bestimmt (Groß, 2008). Die Genotypisierung, die definitive und eindeutige Resultate bezüglich des Zygotiestatus liefert, ist durch molekularbiologische Untersuchungen, z.B. die PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) an Leukozyten-DNA, aber auch an paraffinierten Gewebeproben, möglich (Hammerberg und Keren, 1996).

Eine weitere Möglichkeit zum Nachweis eines AAT-Mangels des Typs PiZ ist die histomorphologische Untersuchung von Lebergewebsproben. Vor der Ära der Immunhistochemie wurde hierfür die PAS-Färbung an diastasevorbehandelten Schnittpräparaten verwendet. Allerdings wiesen Clausen et al. (1984) darauf hin, dass PAS-positive Globuli nicht spezifisch für das PiZ-Molekül sind sondern auch bei anderen hepatischen Protein-Ablagerungen vorhanden sein können. Eine zuverlässige Methode zum Nachweis von AAT-Ablagerungen des Typs PiZ ist die immunhistochemische Färbung mit

dem monoklonalen Antikörper ATZ 11. Dieser Antikörper ist hochspezifisch für das PiZ-Protein und ermöglicht so eine zweifelsfreie Detektion des derart mutierten alpha1-Antitrypsins (Wallmark et al., 1984; Zhou et al., 2000).

1.3.4 Therapie

Patienten mit alpha1-Antitrypsinmangel sollten im Sinne der Primärprävention Noxen meiden, die toxisch auf Lunge bzw. Leber wirken; das bedeutet insbesondere die Vermeidung von aktivem und passivem Rauchen sowie Alkoholabstinenz.

COPD bzw. Emphysem werden den Leitlinien entsprechend symptomatisch therapiert; dazu gehören z.B. die Anwendung von Bronchodilatoren oder inhalativen Kortikoiden. In fortgeschrittenem Stadium kann eine Lungentransplantation nötig werden. Die funktionellen Resultate der Transplantation bei AAT-Mangel-Patienten sind gut mit einer Fünf-Jahres-Überlebensrate von ungefähr 50% (Levine et al., 1994). Zur spezifischen Therapie des AAT-Mangels kann aus Fremdplasma gereinigtes alpha1-Antitrypsin intravenös appliziert und so der Enzymspiegel angehoben werden (Stoller und Aboussouan, 2005). Alternativ ist eine inhalative Therapie mit AAT möglich (Vogelmeier et al., 1997). Die Verhinderung der Polymerisation von AAT des Typs PiZ (AAT Z) in der Lunge ist ein weiterer Therapieansatz. Chang et al. (2006) ist es gelungen Peptide herzustellen, die spezifisch an AAT des Typ PiZ binden und so den Polymerisationsprozess unterbinden.

In Zukunft wird möglicherweise die somatische Gentherapie eine wichtige Rolle in der Behandlung des AAT-Mangels spielen (Sandhaus, 2004).

Für die PiZ-assoziierte Hepatopathie existiert keine spezifische Therapie. Bei fortgeschrittener Organschädigung bzw. Organversagen stellt die Transplantation die einzige Option dar. Eine erfolgreiche Lebertransplantation behebt den Gendefekt und es kommt zu einer Normalisierung des AAT-Plasmaspiegels (Norman et al., 1997).

1.3.5 Pathogenese des alpha1-Antitrypsinmangel-assoziierten Leberschadens

Die Leberschädigung bei alpha1-Antitrypsinmangel ist Folge der Retention des mutierten AAT-Z-Proteins im Endoplasmatischen Retikulum (ER). Fehlgefaltetes AAT-Z neigt zur Polymerisation im ER. Das Polymerisationsprodukt kann nicht sezerniert werden und es kommt zur AAT-Z-Akkumulation (Sidhar et al., 1995). Neuere Untersuchungen weisen allerdings darauf hin, dass die Polymerisation von AAT-Z möglicherweise auch erst die Folge seiner Retention im ER sein könnte (Lin et al., 2001; Perlmutter et al., 2007). Für den Abbau des mutierten AAT-Z, der prinzipiell Leberzell-protektiv ist, stehen vor allem zwei Wege zur

Verfügung: das Proteasom und die Autophagie. Ersterer wird auch mit dem Begriff „ER-associated degradation“ (ERAD) beschrieben. Hierbei kommt es zunächst zur Retranslokation des fehlgefalteten Proteins vom ER ins Zytoplasma. Es folgen die zytoplasmatische Ubiquitinierung und letztlich der Abbau im multikatalytischen Proteasom (Perlmutter et al., 2007). Die Autophagie ist ein Mechanismus, durch den Zellen verschiedenste zytoplasmatische Komponenten – von fehlgefalteten Proteinen bis hin zu großen Zellorganellen – vernichten können. Kamimoto et al. (2006) wiesen nach, dass die Autophagie eine fundamentale Rolle in der AAT-Z-Beseitigung spielt und dass dieser Abbaumechanismus spezifisch durch aggregiertes AAT-Z stimuliert wird. Neben der Autophagie aktiviert die AAT-Z-Akkumulation auch den Signalweg der sog. ER-Überladungsantwort (ER overload pathway). Im Zuge dieses Signalweges kommt es u.a. zu einer vermehrten Expression des Transkriptionsfaktors NFκB (nuclear factor kappaB). Dieser verstärkt die Ausbildung einer Entzündungsreaktion in Leber und Lunge und wird außerdem in Zusammenhang gebracht mit entzündungs-assoziiierter Karzinogenese (Maeda et al., 2005). Die AAT-Z-Überladung führt weiterhin zur Aktivierung von ER-Kaspasen und von BAP31. BAP31 ist ein integrales ER-Membranprotein, das verantwortlich gemacht wird für die Schädigung von Mitochondrien sowie die Aktivierung von mitochondrialen Kaspasen (Teckman et al., 2004). Zusammengefasst lässt sich also feststellen, dass in Hepatozyten mit AAT-Z-Akkumulation eine Stressreaktion ausgelöst wird, in deren Folge es zur Aktivierung von Kaspasen, NFκB und der Autophagie kommt.

Überraschenderweise führt die AAT-Z-Akkumulation nicht zu einer Aktivierung der sog. „unfolded protein response“ (UPR), die einen weiteren Mechanismus zur Entsorgung abnormer Proteine oder zur Initiierung der Apoptose darstellt (Hidvegi et al., 2005).

Während AAT-Z-Globuli enthaltende Leberzellen selbst eine verminderte Proliferationsrate aufweisen, scheinen sie regenerationsfördernde Stimuli an AAT-Z-negative Hepatozyten auszusenden. Dies ist eine mögliche Erklärung dafür, dass es insbesondere in Leberregionen mit geringer oder fehlender AAT-Z-Belastung zu einer verstärkten Zellproliferation und letztlich zur Entstehung von Adenomen und Karzinomen kommt (Rudnick und Perlmutter, 2005).

1.3.6 alpha1-Antitrypsinmangel und maligne Tumorerkrankungen

Der genetisch bedingte alpha1-Antitrypsinmangel führt zu einem Ungleichgewicht zwischen Elastase und Antielastase (alpha1-Antitrypsin). Dieser unphysiologische Zustand aus reduzierter Aktivität von alpha1-Antitrypsin und gesteigerter Aktivität der Neutrophilen Elastase steht im Verdacht die Entstehung verschiedener maligner Tumorerkrankungen zu begünstigen. So wird der AAT-Mangel in Zusammenhang gebracht mit einem erhöhten Risiko für Blasen- (Benkman et al., 1987) und Lungenkrebs (Yang et al., 1999;

Yang et al., 2008). Das Lungenkrebsrisiko ist besonders hoch bei Rauchern mit AAT-Mangel, da die im Zigarettenrauch enthaltenen Noxen neutrophile Granulozyten stimulieren und gleichzeitig alpha1-Antitrypsin inaktivieren, sodass die Elastase-Antielastase-Disbalance zusätzlich verstärkt wird. Weitere Tumorerkrankungen, die mit einem AAT-Mangel assoziiert werden, sind das kolorektale Karzinom (Yang et al., 2000), das Adenokarzinom der Gallenblase (Callea et al., 1982a) sowie maligne Lymphome (Callea et al., 1982b). Yang et al. (2000) zeigten, dass insbesondere AAT-Mangel Patienten mit gleichzeitigem Nikotinabusus ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung kolorektaler Karzinome tragen.

Als gesichert gilt heute, dass der AAT-Mangel Typ PiZ – selbst in heterozygoter Form – die Entstehung primärer Leberzellkarzinome begünstigt (Zhou et al., 2000). Die Entwicklung maligner Lebertumoren hängt möglicherweise mit dem obenerwähnten Fehlen des UPR-Signalweges (s. Abschnitt 1.3.5) zusammen, da „kranke“, das mutierte AAT-Protein retinierende Zellen nicht mehr den apoptotischen Zelltod sterben sondern überleben (Hidvegi et al., 2005).

1.4 Fragestellung

Diese Arbeit geht zwei Fragestellungen nach:

1. Zum einen interessiert uns, ob das Vorliegen eines alpha1-Antitrypsinmangels Typ PiZ im heterozygoten Erbgang die Entstehung maligner extrahepatischer Tumoren begünstigt (Fragestellung „PiZ – Malignome“).
2. Zum anderen untersuchen wir, inwieweit dieser Enzymmangel eine alkoholtoxisch bedingte Leberschädigung aggraviert (Fragestellung „PiZ – Alkohol“).

2 Patientenkollektiv, Matching und Methoden

2.1 Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv für diese Dissertation leitet sich aus dem konsekutiven Eingang an Leberbiopsien und -resektaten ab, die von Januar 1995 bis einschließlich Dezember 2007 am Institut für Pathologie der Universität Bonn untersucht worden sind. Um die PiZ-positiven Patienten zu detektieren, werden alle Leberproben des Untersuchungszeitraums (6886 Fälle) immunhistochemisch auf das Vorhandensein des alpha1-Antitrypsin-Proteins vom Typ PiZ hin untersucht. Nach der histologischen Begutachtung finden sich im Gesamtkollektiv 254 PiZ-positive Patienten.

Die anschließende Analyse der Krankenakten dieser Patienten und der entsprechenden PiZ-negativen Kontrollgruppe (s. u.) soll Auskunft geben über ein möglicherweise erhöhtes Tumorrisiko der PiZ-positiven Patienten (Fragestellung „PiZ – Malignome“). Hierfür können die Daten von 157 Patienten des gereinigten PiZ-positiven Gesamtkollektivs verwendet werden. Die übrigen 97 PiZ-positiven Fälle werden aus folgenden Gründen nicht aufgenommen:

- unvollständige bzw. unklare Angaben in der Anamnese bezüglich einer möglichen Tumorerkrankung
- Kinder unter fünf Jahren
- PiZ-positive Spenderleber (d.h. der alpha1-Antitrypsinmangel wurde erst im Rahmen einer Lebertransplantation erworben.)

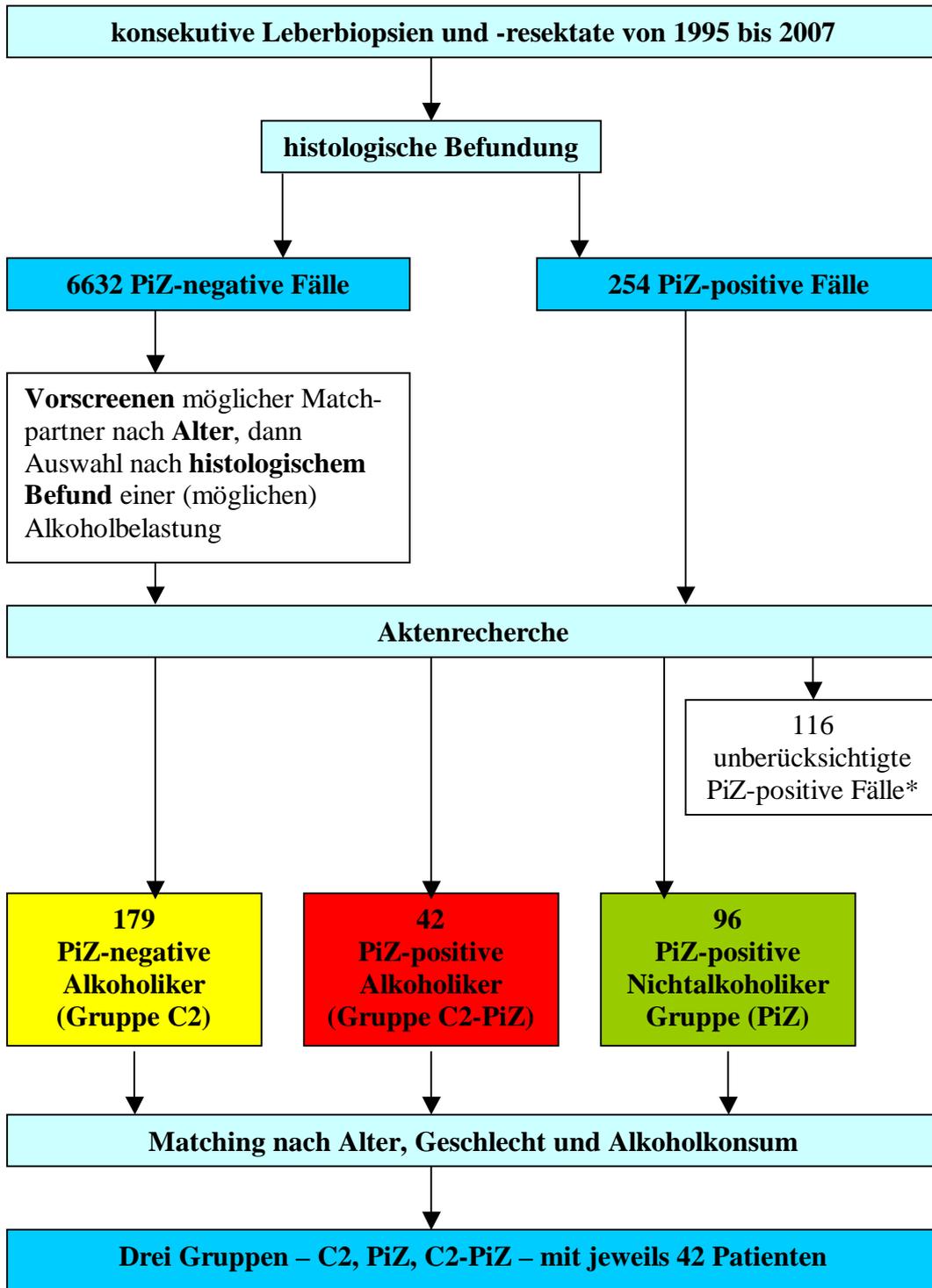
Um der Frage nach den Auswirkungen des alpha1-Antitrypsinmangels bei Alkoholmissbrauch nachzugehen, werden drei Patientengruppen miteinander verglichen: Doppelt belastete PiZ-positive Alkoholiker als Kerngruppe (C2-PiZ) und als Vergleichsgruppen PiZ-positive Nichtalkoholiker (PiZ) sowie PiZ-negative Alkoholiker (C2). Nur bestimmte PiZ-positive Patienten werden in die Untersuchung einbezogen: Ausschlusskriterien sind ein Alter unter 18

Jahren, das Vorliegen einer viralen oder autoimmunen Hepatitis sowie Speicherkrankheiten (einschließlich Hämochromatose und M.Wilson). Außerdem werden Patienten mit histologisch relevantem Diabetes mellitus und fehlender Alkoholanamnese nicht berücksichtigt. Finden sich in einer Leberprobe weniger als fünf Portalfelder oder nur peritumoröses Lebergewebe, so werden auch diese Fälle ausgeschlossen. 138 PiZ- positive Patienten erfüllen die Einschlusskriterien. Davon sind 42 Personen Alkoholiker und 96 Nichtalkoholiker. Da 42 Patienten also die Kriterien der Kerngruppe C2-PiZ erfüllen, müssen auch die beiden Vergleichsgruppen je 42 Patienten umfassen. Unter den 96 PiZ-positiven Nichtalkoholikern werden 42 ausgewählt, um die Vergleichsgruppe PiZ zu bilden. Die dritte Gruppe der PiZ-negativen Alkoholiker wird aus den übrigen Leberfällen des Untersuchungszeitraums ausgewählt. Hier gelten die gleichen Auswahlkriterien wie bei den PiZ-positiven Fällen.

Mit der Fragestellung „PiZ – Alkohol“ setzen wir eine frühere Untersuchung zu diesem Thema fort bzw. erweitern das damalige Kollektiv: Frau Christa Stedele wertete in ihrer Doktorarbeit Fälle des Zeitraums 1995 bis 2001 aus. Auf ihre Ergebnisse greifen wir hier zurück und erweitern das Kollektiv durch die Untersuchung der Jahrgänge 2002 bis 2007.

2.2 Matching

1. „PiZ – Malignome“: Bei der Frage nach einem erhöhten extrahepatischen Tumorrisiko werden insgesamt 157 PiZ-positive Patienten mit jeweils einem PiZ-negativen Matchpartner verglichen. Auswahlkriterien hierfür sind Geschlecht und Alter der Patienten.
2. „PiZ – Alkohol“: Bei der Frage nach den Auswirkungen des alpha1-Antitrypsinmangels bei Alkoholabusus, erhält jeder PiZ-positive Alkoholiker (C2-PiZ) je einen Matchpartner aus den beiden Vergleichsgruppen: einen PiZ-positiven Nichtalkoholiker (PiZ) und einen PiZ-negativen Alkoholiker (C2). Matchkriterien sind auch hier Alter und Geschlecht sowie zusätzlich der in der Krankenakte beschriebene Alkoholkonsum.



* Aus dem Matching ausgeschlossen: histologisch relevanter Diabetes mellitus, virale oder autoimmune Hepatitis, Speicherkrankheiten (Hämochromatose, M. Wilson), Leberproben mit weniger als fünf Portalfelder/ausschließlich peritumorösem Lebergewebe, fehlende Angaben zum Alkoholkonsum

Abb. 1: Auswahl der Fälle und Bildung der Vergleichsgruppen („PiZ – Alkohol“)

2.3 Methoden

2.3.1 Histologische Färbungen

Nach Fixation des Gewebes in 4%iger Formalinlösung und anschließender Einbettung in Paraffin, werden routinemäßig folgende Färbungen durchgeführt: Hämatoxylin-Eosin, Sirius-Rot, Berliner-Blau zur Eisendarstellung, Rhodanin zur Kupferdarstellung und Perjod-Schiff-Reagenz (PAS) zur Glykogendarstellung.

2.3.2 Immunhistochemische Färbung

Das Prinzip der immunhistochemischen Färbung ist die Identifizierung und histologische Lokalisierung eines Stoffes mittels der Antigen-Antikörper-Reaktion. In unserem Fall dient das in den Hepatozyten abgelagerte AAT-1-Protein vom Typ PiZ als Antigen, welches mit dem monoklonalen Antikörper ATZ 11 (Wieslab, Eurodiagnostics) reagiert (Wallmark et al., 1984). Die Färbungen mit diesem Antikörper werden in einem speziellen Färbeautomaten (TechMate 500, DAKO, Hamburg) nach der Avidin-Biotin-Komplex-Methode (ABC-Methode) durchgeführt. Die ABC-Methode basiert auf der hohen Affinität von Streptavidin (*Streptomyces avidinii*) und Avidin (Hühnereiweiß) für Biotin: An den primären Antigen-Antikörper-Komplex bindet ein biotinylierter Sekundärantikörper. Im nächsten Schritt reagiert dieser biotinmarkierte Sekundärantikörper mit einem (Strept)Avidin-Biotin-Enzymkomplex. Als Enzymmarker dient bei unseren Färbungen Meerrettichperoxidase. Chromogen ist das Substrat 3-Amino-Ethylcarbazol (AEC), welches unter Oxidation ein rotes Endprodukt bildet.

Zur immunhistochemischen Darstellung von Mallory-Denk-Hyalin dienen gegen Ubiquitin-Protein-Komplexe gerichtete polyklonale Kaninchen-Antikörper (DAKO, Hamburg).

2.3.3 Semiquantitative histologische Auswertung

Für die vorliegende Arbeit werden zunächst alle PiZ-positiven Gewebeschnitte ohne Zusatzinformationen histologisch beurteilt. Jede Leberprobe muss mindestes fünf Portalfelder und immunhistochemisch eindeutig PiZ-positive Ablagerungen aufweisen. Die histologischen Befunde, die für die Fragestellung „PiZ – Alkohol“ relevant sind, werden zur besseren statistischen Auswertbarkeit in Scores gefasst. Die Auswertung erfolgt zunächst unabhängig und anschließend gemeinsam durch zwei Beobachter.

2.3.3.1 Zellhydrops

Die hydropische Zellschwellung (Ballonierung) der Hepatozyten ist ein histologisches Charakteristikum der alkoholtoxischen Leberschädigung (s. Tab. 2). Die betroffenen Zellen sind stark vergrößert und erscheinen aufgehellt. Die Zellgrenzen treten deutlich hervor.

Ausmaß der hydropischen Leberzellen periportal	Scorewert
keine	0
wenig ballonierte Hepatozyten um wenige Portalfelder	1
viele ballonierte Hepatozyten um wenige Portalfelder oder wenige ballonierte Hepatozyten um viele Portalfelder	2
viele ballonierte Hepatozyten um viele Portalfelder	3
Ausmaß der hydropischen Leberzellen läppchenzentral	Scorewert
keine	0
wenige ballonierte Hepatozyten in wenigen Lobuluszentren bzw. perivenulär	1
viele ballonierte Hepatozyten in wenigen Lobuluszentren oder wenige ballonierte Hepatozyten in vielen Lobuli bzw. perivenulär	2
viele ballonierte Hepatozyten in vielen Lobuluszentren bzw. perivenulär	3

Tab. 2: Ausmaß und Scorewerte der ballonierten (hydropischen) Hepatozyten

2.3.3.2 Granulozytäres Infiltrat

Neutrophile Granulozyten, als obligatorischer Bestandteil der Alkoholhepatitis, dominieren das Entzündungsgeschehen. Wir beurteilen das granulozytäre Infiltrat getrennt vom lymphozytären anhand semiquantitativer Scores (s. Tab. 3).

Ausmaß der periportalen granulozytären Entzündung	Scorewert
keine	0
wenige Granulozyten um wenige Portalfelder	1
viele Granulozyten um wenige Portalfelder oder wenige Granulozyten um viele Portalfelder	2
viele Granulozyten um viele Portalfelder	3
Ausmaß der läppchenbezogenen granulozytären Entzündung	Scorewert
keine	0
wenige Granulozyten in wenigen Lobuluszentren bzw. perivenulär	1
viele Granulozyten in wenigen Lobuli oder wenige Granulozyten in vielen Lobuluszentren bzw. perivenulär	2
viele Granulozyten in vielen Lobuluszentren bzw. perivenulär	3

Tab. 3: Ausmaß und Scorewerte der granulozytären Entzündung periportal und im Läppchen

2.3.3.3 Lymphozytäres Infiltrat

Auch Lymphozyten finden sich in der Entzündungsreaktion; sie spielen insgesamt aber eine eher untergeordnete Rolle. Basis des Scores der lymphozytären Entzündung ist der modifizierte Knodell Histological Activity Index (Knodell et al., 1981) (s. Tab. 4).

portale lymphozytäre Entzündungsintensität		
Bezeichnung	Veränderungen	Scorewert
	keine	0
minimal	Entzündungszellen „gesprenkelt“ in < 1/3 der Portalfelder	1
leicht	viele Entzündungszellen in < 1/3 der Portalfelder oder gesprenkelt verteilte Entzündungszellen in > 1/3 der Portalfelder	2
mäßig	viele Entzündungszellen in 1/3 bis 2/3 der Portalfelder	3
stark	dichte Entzündungsinfiltrate in > 2/3 der Portalfelder	4
periportale lymphozytäre Entzündungsintensität		
Bezeichnung	Veränderungen	Scorewert
	keine	0
minimal	ein oder wenige Inflammationsherd(e) um einzelne Portalfelder	1
leicht	Mottenfraßnekrosen in < 50% der Umgebung von < 50% der Portalfelder	2
mäßig	Mottenfraßnekrosen in < 50% der Umgebung von > 50% der Portalfelder	3
stark	Mottenfraßnekrosen in > 50% der Umgebung von > 50% der Portalfelder	4
schwer	portoportale oder portozentrale Brückennekrosen	5
sehr schwer	Kriterien aus „stark“ und „schwer“	6

Tab. 4: Ausmaß und Scorewerte der lymphozytären Entzündungsintensität in den einzelnen Leberzonen sowie in der Summe der Einzelscorewerte (Teil 1)

läppchenbezogene lymphozytäre Entzündungsintensität		
Bezeichnung	Veränderungen	Scorewert
	keine	0
minimal	einzelne/zusammenfließende Nekrosen/Entzündungen in < 1/3 der Läppchen oder Knötchen	1
mäßig	einzelne/zusammenfließende Nekrosen/Entzündungen in 1/3 bis 2/3 der Läppchen oder Knötchen	3
stark	einzelne/zusammenfließende Nekrosen/Entzündungen in > 2/3 der Läppchen oder Knötchen	4
schwer	einzelne/zusammenfließende Nekrosen/Entzündungen in > 2/3 der Läppchen oder Knötchen sowie Nekrosen mit Portozenalbrückenbildung	6
sehr schwer	pan-/multilobulär zusammenfließende Nekrosen	10
inflammatorischer Score (I-Score)		
	Summe aus den Scorewerten der portalen, periportalen und läppchenbezogenen lymphozytären Entzündungsintensität	0-20

Tab. 4: Ausmaß und Scorewerte der lymphozytären Entzündungsintensität in den einzelnen Leberzonen sowie in der Summe der Einzelscorewerte (Teil 2)

2.3.3.4 Verfaserung

Bezüglich der Verfaserung des Leberparenchyms werden gesondert ausgewertet (a) die periportale über Septen zur Zirrhose fortschreitende Fibrose, „hepatitisches Fibrosemuster“, graduiert nach dem modifizierten Knodell-Score (Knodell et al., 1981), sowie (b) die zentrilobuläre bzw. zentrinoduläre Fibrose, „alkoholtoxisches Fibrosemuster“, in vier Ausprägungsgraden (s. Tab. 5).

(a) Ausmaß der Fibrose	Score wert	(b) Ausmaß der zentrilobulären Fibrose	Score wert
keine	0	keine	0
periportale Fibrose	1	geringe Ausprägung	1
periportale Fibrose sowie inkomplette Septen	2	mäßige Ausprägung	2
septenbildende Fibrose	3	starke Ausprägung	3
inkomplette Zirrhose	4	-	-
komplette Zirrhose	5	-	-

Tab. 5: Ausmaß und Scorewerte der (a) Fibrose (mit Ausnahme der zentrilobulären Fibrose) und (b) zentrilobulären Fibrose

2.3.3.5 Pigmentablagerungen und Verfettung der Hepatozyten

Bewertet werden Ablagerungen von Siderin (in Parenchymzellen und Makrophagen), Gallepigment und Lipopigment (s. Tab. 6).

Die Verfettung der Hepatozyten wird in Prozent der betroffenen Zellen angegeben.

Pigment	Ausmaß der Ablagerung	Scorewerte
Eisen	keine – wenig – mittel – viel jeweils in Makrophagen (M) oder im Parenchym (P)	0 – 1 – 2 – 3
Gallepigment	keine – diskret – mäßig – ausgeprägt	0 – 1 – 2 – 3
Lipopigment	keine – wenig – mittel – viel	0 – 1 – 2 – 3

Tab. 6: Ausmaß und Scorewerte der Pigmentablagerungen

2.3.3.6 Mallory-Denk-Hyalin

Das immunhistochemisch sichtbar gemachte ubiquitinierte Mallory-Denk-Hyalin, als möglicher Indikator für eine alkoholtoxische Schädigung, wird ausgewertet (s. Tab. 7).

Läppchenzentrale Hepatozyten	Scorewert
keine	0
wenige betroffene Hepatozyten in wenigen Lobuli bzw. perivenulär	1
viele Hepatozyten in wenigen Lobuli oder wenige Hepatozyten in vielen Lobuli bzw. perivenulär	2
viele Hepatozyten in vielen Lobuli bzw. perivenulär	3
Periportale Hepatozyten	Scorewert
keine	0
wenige betroffene Hepatozyten um wenige Portalfelder	1
viele Hepatozyten um wenige Portalfelder oder wenige Hepatozyten um viele Portalfelder	2
viele Hepatozyten um viele Portalfelder	3

Tab. 7: Menge und Lokalisation von Leberzellen mit ubiquitiniertem Mallory-Denk-Hyalin

2.3.3.7 alpha1-Antitrypsinablagerungen bei PiZ-Mutation

Ausgewertet werden die mittels monoklonalem Antikörper immunhistochemisch sichtbar gemachten alpha1-Antitrypsin-Ablagerungen in den Hepatozyten. Hierbei wird unterschieden zwischen granulären (Grad 1) und globulären (Grad 2) Ablagerungen (s. Tab. 8). Die Beurteilungskriterien für das Ausmaß der Ablagerungen sind in Tabelle 8 dargestellt.

Bei der immunhistochemischen Färbung reagieren die Endothelien von Arteriolen, Venolen und Kapillaren mit, sodass ihre Anfärbung sich als Prüfkriterium für die Valenz der Methode eignet.

Anzahl und Verteilung ablagernder Hepatozyten	Scorewert
keine	0
wenige periportale Hepatozyten um einzelne Portaltrakte	1
wenige Hepatozyten um alle Portaltrakte oder linear verteilte Hepatozyten um einzelne Portaltrakte	2
lineare Verteilung der Hepatozyten um alle Portaltrakte	3
Hepatozyten in großen Parenchymarealen einschließlich kompletter Lobuli	4
Form der hepatozytären Ablagerungen	
granulär (< 7 Mikrometer Durchmesser)	1
globulär (> = 7 Mikrometer Durchmesser, Erythrozytengröße und mehr)	2

Tab. 8: Ausmaß und Scorewerte der PiZ-Ablagerungen in der Leber (PiZ-Maß)

2.3.4 Genetische Analyse der PiZ-Mutation am Paraffinmaterial

In ausgewählten Fällen – insbesondere solchen mit fortgeschrittener Fibrose bzw. Leberzirrhose in Kombination mit ausgeprägten AAT-Ablagerungen – wird zusätzlich zur immunhistochemischen Untersuchung eine genetische AAT-Typisierung am Paraffinmaterial durchgeführt. Um Lebergewebe schonen zu können, werden für die genetische Analyse auch formalin-fixierte und paraffin-eingebettete Proben aus anderen Geweben verwendet (z.B. Lymphknoten, Magen, Darm, Gallenblase, Ovar).

2.3.4.1 Gewebepreparation und Extraktion der DNA

Für die DNA-Extraktion werden je nach Größe des Gewebestückes 3-6 10 µm dicke Schnitte angefertigt und über Nacht auf Glasobjektträgern bei einer Temperatur von 60°C inkubiert, um das Paraffin abtropfen zu lassen. Anschließend erfolgt die Entparaffinierung mit Xylol und die Überführung in die wässrige Phase in einer absteigenden Alkoholreihe. Das Gewebe wird von den Objektträgern abgekratzt und mit 180 µl ATL-Puffer (Qiagen) und 20 µl Proteinase K gemischt und über Nacht bei 56°C angedaut (Proteinase K, Quiagen, Hilden). Die Aufreinigung der DNA erfolgt am nächsten Tag mit dem QIAamp DNA-Mini-Kit der Firma Qiagen nach dem Protokoll des Herstellers. Die für die PCR erforderliche Eluatmenge wird durch Gelelektrophorese in einem 1%igen Agarosegel bestimmt; es wird die Menge an Template-DNA eingesetzt, die im Gel gerade noch sichtbar ist.

2.3.4.2 alpha1-Antitrypsin Sequenzierung

1. Zur Amplifizierung der gereinigten DNA wird die PCR (Polymerasekettenreaktion) durchgeführt: Zunächst wird die doppelsträngige DNA für 15 Minuten bei einer Temperatur von 95°C denaturiert. Nach raschem Abkühlen auf 60°C werden zwei Primer (1 µl Primer F, 1 µl Primer R, 20 pmol/µl) hinzugefügt. Durch Zusatz einer DNA-Polymerase (0,2 µl Hot Star Taq) werden die Einzelstränge bei einer Temperatur von 72°C zum jeweiligen Doppelstrang komplementiert. Danach wird die DNA durch einminütige Inkubation bei 95°C wieder denaturiert. Insgesamt werden 35 derartige Reaktionszyklen (DNA-Denaturierung, Primerhybridisierung und DNA-Elongation) durchlaufen und die DNA so exponentiell amplifiziert.
2. Nach der PCR werden die Primer durch eine Polyethylenglykol-Aufreinigung wieder aus dem PCR-Produkt entfernt.
3. Die eigentliche Sequenzierung der aufgereinigten DNA beruht auf der von F. Sanger entwickelten Kettenabbruchmethode. Hierbei wird zunächst mithilfe einer DNA-Polymerase

der komplementäre Strang des zu sequenzierenden DNA-Stückes hergestellt. Durch den Zusatz von fluoreszenzmarkierten Didesoxynukleotiden kommt es zu einem basenspezifischen Kettenabbruch der DNA-Synthese, wodurch unterschiedlich lange DNA-Fragmente entstehen. Diese Fragmente werden mittels Kapillarelektrophorese ihrer Größe nach aufgetrennt und durch einen Laser zur Fluoreszenz angeregt. Aus den verschiedenen Fluoreszenzsignalen kann die Abfolge der Basen des sequenzierten DNA-Stranges ermittelt werden. Die Sequenzierungs-PCR wird mit dem BigDye Terminator Ready Reaction Mix (Applied Biosystems, Darmstadt, Deutschland) durchgeführt. Nach Alkoholfällung der PCR-Produkte erfolgt die Kapillarelektrophorese mittels ABI Prism Genetic Analyzer 3130 (Applied Biosystems).

4. Zur Auswertung werden die Sequenzen mit der Wildtyp-Sequenz verglichen. Das Allel PIS ist durch den Basenaustausch c.863A>T gekennzeichnet, der zum Aminosäureaustausch p.E288V führt. Das Allel PIZ ist durch den Basenaustausch c.1096G>A gekennzeichnet, der zum Aminosäureaustausch p.E366K führt.

2.3.5 Analyse der Krankenakten

Die klinischen Angaben werden in den meisten Fällen den Krankenakten der Patienten entnommen; bei einem kleinen Teil der Fälle dienen stationäre Entlassungsbriefe als Informationsquelle. Die Akten bzw. Briefe aller untersuchten Fälle werden nach dem gleichen Schema ausgewertet. Wichtig sind insbesondere die Daten, die zum Zeitpunkt der Gewebeentnahme ermittelt wurden.

Die Erfassung möglichst genauer Angaben bezüglich des Alkoholkonsums ist von zentraler Bedeutung und berücksichtigt Informationen über die tägliche Alkoholmenge, wenn möglich auch die Dauer des Alkoholkonsums über die Jahre bzw. eine aktuelle Abstinenz.

Um eine Aussage hinsichtlich eines erhöhten Tumorrisikos treffen zu können, wird bei der Analyse der Krankenakten besonderes Augenmerk auf die Erwähnung tumoröser Erkrankungen gelegt.

Des Weiteren werden Informationen über folgende, potenziell leberschädigende Faktoren aufgenommen:

- Virushepatitiden
- Diabetes mellitus
- Speicherkrankheiten wie M. Wilson oder Hämochromatose
- alle Angaben über sonstige Erkrankungen oder Operationen aus der Anamnese

Außerdem werden verschiedene laborchemische Parameter, die zeitnah zur Entnahme der Gewebeprobe ermittelt wurden, dokumentiert (s. Tab. 9). Sind die Laborwerte mehr als sieben Tage vorher bestimmt worden, gelten sie als nicht vorhanden. Bei der Angabe „Normwert“ wird der Mittelwert aus oberem und unterem Referenzwert berechnet und in die Tabelle eingefügt.

Abkürzung	Analyt	Referenzwerte (Heil et al.,2003)	Normwert
y-GT	γ -Glutamyl- Transferase	Frauen < 36 U/l Männer < 61 U/l	Frauen 24 U/l Männer 40 U/l
CRP	C-reaktives Protein	Frauen/Männer < 5 mg/l	Frauen/Männer 0,1 mg/dl
Bili	Bilirubin gesamt	Frauen/Männer < 1,0 mg/dl	Frauen/Männer 0,6 mg/dl
GOT	Glutamat- Oxalacetat- Transferase	Frauen < 31 U/l Männer < 36 U/l	Frauen 20 U/l Männer 24 U/l
GPT	Glutamat-Pyruvat- Transaminase	Frauen < 29 U/l Männer < 46 U/l	Frauen 20 U/l Männer 30 U/l
Quick	Thromboplastinzeit / Prothrombinzeit	Frauen/Männer $\geq 70\%$	Frauen/Männer 100%
CHE	Cholinesterase	< 40 Jahre Frauen/Männer 4300-11200 U/l > 40 Jahre Frauen/ Männer 5300-12900 U/l	< 40 Jahre Frauen/Männer 7500 U/l > 40 Jahre Frauen/Männer 8600 U/l
AP	Alkalische Phosphatase	Frauen 35-105 U/l Männer 40-130 U/l	Frauen 70 U/l Männer 85 U/l

Tab. 9: Abkürzungen, Referenz- und Normwerte der Laborparameter; die Normwerte errechnen sich aus den Mittelwerten der Referenzwertgrenzen

2.3.6 Statistik

Die statistische Auswertung der Fragestellung „PiZ – Alkohol“ erfolgt mit dem Softwarepaket „SPSS 14.0 for Windows“ unter Mithilfe des Instituts für Medizinische Biometrie, Informatik und Epidemiologie der Universität Bonn. Die drei Patientengruppen werden jeweils zunächst gemeinsam, anschließend nach Geschlecht getrennt analysiert. Alle Labor- und histologischen Scorewerte werden mithilfe des Kruskal-Wallis-Tests auf signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen getestet. Lassen sich hier signifikante Unterschiede darstellen, so kommt in einem zweiten Schritt der Mann-Whitney-Test zur Anwendung. Der Mann-Whitney-Test vergleicht je zwei Gruppen miteinander und gibt Auskunft darüber, ob zwischen diesen ein signifikanter Unterschied besteht oder nicht. Als statistisch signifikant gilt ein p-Wert kleiner 0,05. Aussagen bezüglich möglicher Korrelationen bestimmter Histologie- und Laborbefunde werden mithilfe des Spearman Korrelationskoeffizienten gemacht. Dabei kann der Korrelationskoeffizient Werte von 0 („nicht korreliert“) bis +1 („absolute positive Korrelation“) bzw. -1 („absolute negative Korrelation“) annehmen.

Um eine Aussage darüber machen zu können, ob zwischen dem PiZ-Status und der Erkrankung an einem extrahepatischen Malignom ein Zusammenhang besteht (Fragestellung „PiZ – Malignome“), kommt der Chi-Quadrat-Test nach Pearson zur Anwendung.

3 Ergebnisse

3.1 Fragestellung „PiZ – Malignome“

Für die Frage nach einem erhöhten extrahepatischen Tumorrisiko bei alpha-Antitrypsinmangelpatienten vergleichen wir zwei Gruppen miteinander: 157 PiZ-positive Patienten werden 157 PiZ-negativen Patienten gleichen Alters und gleichen Geschlechts gegenübergestellt.

Es zeigt sich, dass unter den PiZ-positiven Fällen drei Patienten mehr an extrahepatischen Malignomen erkrankt sind als in der PiZ-negativen Vergleichsgruppe (s. Tab. 10).

	PiZ-positive Patienten	PiZ-negative Patienten
mit extrahepatischem Malignom	54	51
ohne extrahepatisches Malignom	103	106

Tab. 10: Anzahl der Patienten mit bzw. ohne maligne Tumoren extrahepatischen Ursprungs

Der Chi-Quadrat-Test wird durchgeführt, um eine Aussage bezüglich eines Zusammenhangs zwischen PiZ-Status und extrahepatischer Tumorerkrankung machen zu können. Das 95% Quantil der Chi-Quadrat-Verteilung für einen Freiheitsgrad hat den Wert 3,84, was einer Fehlerwahrscheinlichkeit erster Art α von 5% zweiseitig entspricht. Ein Chi-Quadrat-Wert größer 3,84 führt zur Ablehnung der Nullhypothese (PiZ und Auftreten eines extrahepatischen Malignoms sind unabhängig voneinander) und zur Annahme der Alternativhypothese (PiZ und extrahepatisches Malignomaufreten sind voneinander abhängig). In unserem Fall errechnet sich ein Chi-Quadrat-Wert von $\chi^2 = 0,129$ mit einem p-Wert von 0,72. Damit kann die Nullhypothese der Unabhängigkeit beider Ereignisse nicht abgelehnt werden. Der PiZ-Status und das Erkranken an einem extrahepatischen Malignom sind demnach unabhängig voneinander.

	PiZ-positive Patienten		PiZ-negative Patienten	
	Frauen	Männer	Frauen	Männer
alle	60	97	60	97
mit extrahepatischem Malignom	26	28	19	32
ohne extrahepatisches Malignom	34	69	41	65

Tab. 11: Geschlechtergetrennte Betrachtung

Betrachtet man Frauen und Männer bezüglich des extrahepatischen Malignomauftritts getrennt voneinander, fällt auf, dass zwischen PiZ-positiven und PiZ-negativen Frauen ein größerer Unterschied besteht als zwischen PiZ-positiven und PiZ-negativen Männern.

Um zu entscheiden, ob dieser Unterschied zwischen den beiden weiblichen Kollektiven statistisch relevant ist, führen wir erneut den Chi-Quadrat-Test durch. Es ergibt sich ein Chi-Quadrat-Wert von $\chi^2 = 1,742$ mit einem p-Wert von 0,187. Demnach besteht auch für Frauen keine statistisch belegbare Abhängigkeit zwischen PiZ-Status und dem Erkranken an einem extrahepatischen Malignom.

In unseren Ergebnissen ergibt sich kein Hinweis darauf, dass der alpha1-Antitrypsinmangel Typ PiZ mit einem bestimmten Malignomtyp assoziiert ist. Vielmehr weist das PiZ-positive Kollektiv diesbezüglich eine bunte Mischung auf. Ausgenommen hiervon sind lebereigene Tumoren (hepatozelluläres und cholangiozelluläres Karzinom), die deutlich häufiger in der PiZ-belasteten Gruppe auftreten (s. Tab. 12).

	PiZ-positive Patienten	PiZ-negative Patienten
erkrankt an HCC	20	14
erkrankt an CCC	4	1

Tab. 12: Lebereigene Malignome

Eine detaillierte Auflistung der Patienten und der verschiedenen Malignome findet sich im Anhang (s. S. 87-90).

Zusätzlich zu den beiden Patientengruppen der Fragestellung „PiZ – Malignome“ betrachten wir das Auftreten maligner Tumoren in den drei Gruppen der Fragestellung „PiZ – Alkohol“ (s. Tabellen 13 und 14). Hier zeigt sich, dass in der Gruppe der PiZ-positiven Nichtalkoholiker deutlich mehr Tumorfälle auftreten als bei den PiZ-positiven Alkoholikern und den PiZ-negativen Alkoholikern: Knapp die Hälfte der 42 „reinen“ PiZ-Patienten sind an einem Malignom erkrankt.

Gruppe*	Tumorpatienten	Nichttumorpatienten
C2	6	36
PiZ	20	22
C2-PiZ	8	34

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

Tab. 13: Malignomaufreten im Kollektiv „PiZ – Alkohol“

Malignom	C2	PiZ	C2-PiZ
Ösophaguskarzinom	2	1	0
Basaliom	1	0	0
HCC (hepatozelluläres Karzinom)	1	2	3
CCC (cholangiozelluläres Karzinom)	0	0	3
Blasenkarzinom	1	0	0
Pankreaskarzinom	0	2	0
Kolonkarzinom	0	5	0
CUP (cancer of unknown primacy)	0	1	0
Magenkarzinom	0	2	1
Malignes Melanom	0	1	0
Leiomyosarkom	0	1	0
Paragangliom	0	1	0
Morbus Hodgkin	0	2	0
Non-Hodgkin-Lymphom	0	1	0
Urothelkarzinom	0	1	0
Orbitakarzinom	0	1	0
Zervixkarzinom	0	1	0
Ovarialkarzinom	0	0	1
Endometriumkarzinom	0	0	1
Mammakarzinom	1	0	0
Liposarkom	0	0	1
Summe der Malignome	6	22	10

Tab. 14: Verteilung verschiedener Malignomtypen in den drei Gruppen

Da in den beiden PiZ-belasteten Gruppen PiZ und C2-PiZ jeweils zwei Patienten an zwei malignen Erkrankungen gleichzeitig leiden, ergeben sich hier in der Summe 22 bzw. 10 Malignome (s. Tab. 14).

3.2 Fragestellung „PiZ – Alkohol“

Wir vergleichen drei Gruppen miteinander: die PiZ-negativen Alkoholiker (Gruppe C2), die PiZ-positiven Nichtalkoholiker (Gruppe PiZ) und die PiZ-positiven Alkoholiker (Gruppe C2-PiZ). Die statistische Auswertung der ermittelten Patientendaten zeigt die hohe Altershomogenität sowohl innerhalb der drei Gruppen als auch zwischen den Gruppen (s. Tab. 15). Die Laborwerte und histologischen Scores werden zunächst für alle drei Gruppen gemeinsam analysiert, im zweiten Schritt nach Geschlecht getrennt (29 Männer bzw. 13 Frauen pro Gruppe).

Gruppe*	alle			Frauen			Männer		
	C2	PiZ	C2-PiZ	C2	PiZ	C2-PiZ	C2	PiZ	C2-PiZ
Gesamt-fallzahl	42	42	42	13	13	13	29	29	29
Alter – Mittelwert [Jahre]	55,5	55,2	55,7	57,5	55,8	57,4	55,0	55,0	55,0

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positiv Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positiv Alkoholiker

Tab. 15: Altersverteilung in den Gruppen

3.2.1 Histologische Befunde

3.2.1.1 Lymphozytäres Infiltrat

Bezüglich des lymphozytären Infiltrates werten wir drei verschiedene Verteilungsmuster aus – portal, periportal und läppchenzentral – sowie die Summe ihrer Scorewerte, den I-Score (s. Tab. 4).

Die portale lymphozytäre Entzündung fällt bei den alkoholbelasteten Gruppen C2 und C2-PiZ signifikant stärker aus als bei den PiZ-positiven Nichtalkoholikern (s. Tab. 16, Teil 1). Die ausgeprägtesten Infiltrate weist die doppelt belastete Gruppe C2-PiZ auf; sie unterscheidet sich auch von der „reinen“ Alkoholgruppe C2 statistisch signifikant.

Lymphozytäres Infiltrat portal (Scorewert 0 bis 4)					
Gruppe*	Median	Mittelwert	Fallzahl mit Scorewert ≥ 3	Mann-Whitney-Test	Signifikanzniveau (p)
Alle				Alle	
C2	1	1,36	1/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,009
PiZ	1	0,93	2/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,003
C2-PiZ	2	1,71	4/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Männer				Männer	
C2	1	1,38	1/29	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,162
PiZ	1	1,03	2/29	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,056
C2-PiZ	2	1,59	2/29	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,009
Frauen				Frauen	
C2	1	1,31	0/13	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,01
PiZ	1	0,69	0/13	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,013
C2-PiZ	2	2	2/13	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

Tab. 16: Lymphozytäres Infiltrat portal – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt (Teil 1)

Die lymphozytäre Infiltration periportal fällt insgesamt gering aus (s. Tab. 16, Teil 2). In keiner der drei Gruppen finden sich Fälle mit zumindest mäßiger Entzündung (Scorewert ≥ 3). Feststellen lässt sich jedoch, dass auch hier in der Gruppe C2-PiZ statistisch signifikant stärkere lymphozytäre Infiltrate vorliegen als in den einfach belasteten Gruppen C2 und PiZ.

Lymphozytäres Infiltrat periportal (Scorewert 0 bis 6)					
Gruppe*	Median	Mittelwert	Fallzahl mit Scorewert ≥ 3	Mann-Whitney-Test	Signifikanzniveau (p)
Alle				Alle	
C2	1	0,71	0/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,008
PiZ	0	0,5	0/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,057
C2-PiZ	1	1,02	0/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Männer				Männer	
C2	1	0,76	0/29	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,064
PiZ	0	0,52	0/29	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,079
C2-PiZ	1	1	0/29	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,001
Frauen				Frauen	
C2	1	0,62	0/13	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,062
PiZ	0	0,46	0/13	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,44
C2-PiZ	1	1,08	0/13	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,017

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

Tab. 16: Lymphozytäres Infiltrat periportal – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt (Teil 2)

Ähnlich der periportalen ist auch die läppchenzentrale lymphozytäre Entzündung eher gering ausgeprägt (s. Tab. 16, Teil 3). Auch hier treten in keiner der drei Gruppen Fälle von zumindest mäßiger Entzündungsintensität auf (Scorewert ≥ 3). Die alkoholbelasteten Gruppen C2 und C2-PiZ weisen statistisch signifikant ausgeprägtere Infiltrationen auf als die Gruppe PiZ. Beim Vergleich der Gruppen C2 und C2-PiZ miteinander ergibt sich dagegen kein Unterschied.

Lymphozytäres Infiltrat läppchenzentral (Scorewert 0 bis 10)					
Gruppe*	Median	Mittelwert	Fallzahl mit Scorewert ≥ 3	Mann-Whitney-Test	Signifikanzniveau (p)
Alle				Alle	
C2	1	0,67	0/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,531
PiZ	0	0,38	0/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,021
C2-PiZ	1	0,74	0/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,003
Männer				Männer	
C2	1	0,69	0/29	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,869
PiZ	0	0,34	0/29	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,026
C2-PiZ	1	0,69	0/29	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,009
Frauen				Frauen	
C2	1	0,62	0/13	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	k.U.**
PiZ	0	0,46	0/13	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	k.U.
C2-PiZ	1	0,85	0/13	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	k.U.

- * Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker
 ** k.U. kein Unterschied im Kruskal-Wallis-Test ($p > 0,05$)

Tab. 16: Lymphozytäres Infiltrat läppchenzentral – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt (Teil 3)

Bei der Auswertung der Summe der Scorewerte der portalen, periportalen und läppchenzentralen Entzündung, dem I-Score, weist die doppelt belastete Gruppe C2-PiZ mit Abstand die meisten Fälle mit zumindest mäßiger Entzündung auf (Scorewerten ab 4). Die lymphozytäre Infiltration ist hier signifikant stärker als in den beiden einfach belasteten Gruppen C2 und PiZ (s. Tab. 16, Teil 4). Die Gruppe C2 zeigt wiederum eine signifikant ausgeprägtere Entzündung als die Gruppe PiZ. Lediglich die Befunde der männlichen PiZ-negativen und PiZ-positiven Alkoholiker unterscheiden sich nicht.

Lymphozytäres Infiltrat (I-Score 0 bis 20)					
Gruppe*	Median	Mittelwert	Fallzahl mit Scorewert ≥ 4	Mann-Whitney-Test	Signifikanzniveau (p)
Alle				Alle	
C2	3	2,74	11/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,007
PiZ	1	1,76	5/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,001
C2-PiZ	4	3,48	22/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Männer				Männer	
C2	3	2,83	8/29	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,133
PiZ	1	1,9	5/29	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,011
C2-PiZ	3	3,28	13/29	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Frauen				Frauen	
C2	2	2,54	3/13	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,011
PiZ	1	1,46	0/13	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,029
C2-PiZ	4	3,92	9/13	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

Tab. 16: Lymphozytäres Infiltrat (I-Score) – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt (Teil 4)

3.2.1.2 Granulozytäres Infiltrat

Fälle mit ausgeprägten periportalen oder läppchenzentralen granulozytären Infiltrationen finden sich, wenn überhaupt, nur in den alkoholbelasteten Gruppen C2 und C2-PiZ (s. Tab. 17). Beide unterscheiden sich statistisch signifikant von den PiZ-positiven Nichtalkoholikern. Die alkoholbelasteten Gruppen weisen pathologische Befunde von sehr ähnlichem Ausmaß auf; hier besteht kein signifikanter Unterschied.

Granulozytäres Infiltrat periportal (Scorewert 0 bis 3)					
Gruppe*	Median	Mittelwert	Fallzahl mit Scorewert 3	Mann-Whitney-Test	Signifikanz-niveau (p)
Alle				Alle	
C2	1	1,12	3/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,746
PiZ	0	0,24	0/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	1	1,17	3/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Männer				Männer	
C2	1	1,1	2/29	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,932
PiZ	0	0,28	0/29	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	1	1,14	3/29	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Frauen				Frauen	
C2	1	1,15	1/13	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,592
PiZ	0	0,15	0/13	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	1	1,23	0/13	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positiv Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positiv Alkoholiker

Tab. 17: Granulozytäres Infiltrat periportal – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt (Teil 1)

Granulozytäres Infiltrat läppchenzentral (Scorewert 0 bis 3)					
Gruppe*	Median	Mittelwert	Fallzahl mit Scorewert 3	Mann-Whitney-Test	Signifikanz-niveau (p)
Alle				Alle	
C2	1	0,98	4/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,376
PiZ	0	0,07	0/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	1	0,81	2/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Männer				Männer	
C2	1	1	3/29	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,467
PiZ	0	0,1	0/29	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	1	0,83	2/29	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Frauen				Frauen	
C2	1	0,92	1/13	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,642
PiZ	0	0	0/13	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	1	0,77	0/13	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,001

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

Tab. 17: Granulozytäres Infiltrat läppchenzentral – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt (Teil 2)

3.2.1.3 Fibrose (außer zentrilobulärer Fibrose)

Die beiden alkoholbelasteten Gruppen zeigen die weitaus stärksten pathologischen Veränderungen (s. Tab. 18). Mit Abstand die meisten schweren Fibrosen bzw. Zirrhosen treten bei den doppelt belasteten PiZ-positiven Alkoholikern auf. Der Median dieser Gruppe liegt bereits im Bereich der „kompletten Zirrhose“ (Scorewert 5). Im Unterschied dazu befindet sich der Median der „reinen“ Alkoholiker (Gruppe C2) noch im Bereich der „septenbildenden Fibrose“ (Scorewert 3). Der Unterschied zwischen diesen beiden alkoholbelasteten Gruppen (C2 und C2-PiZ) ist statistisch signifikant. Unter den PiZ-positiven Nichtalkoholikern finden sich vier inkomplette (Scorewert 4) sowie eine komplette Zirrhose (Scorewert 5).

Fibrosegrad (Scorewert 0 bis 5)					
Gruppe*	Median	Mittelwert	Fallzahl mit Scorewert 4-5	Mann-Whitney-Test	Signifikanz-niveau (p)
Alle				Alle	
C2	3	2,83	19/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,006
PiZ	1	0,98	5/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	5	3,79	31/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Männer				Männer	
C2	3	2,62	11/29	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,014
PiZ	1	1,28	5/29	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,002
C2-PiZ	5	3,62	20/29	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Frauen				Frauen	
C2	4	3,31	8/13	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,298
PiZ	0	0,31	0/13	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	5	4,15	11/13	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

Tab. 18: Fibrosegrad – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie der Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt

3.2.1.4 Zentrilobuläre Fibrose

Die zentrilobuläre Verfaserung der alkoholbelasteten Gruppen (C2 und C2-PiZ) ist statistisch signifikant stärker ausgeprägt als bei den PiZ-positiven Nichtalkoholikern. Zwischen den Gruppen C2 und C2-PiZ besteht hingegen kein signifikanter Unterschied (s. Tab. 19).

Zentrilobuläre Fibrose (Scorewert 0 bis 3)					
Gruppe*	Median	Mittelwert	Fallzahl mit Scorewert 3	Mann-Whitney-Test	Signifikanz-niveau (p)
Alle				Alle	
C2	2	1,81	12/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,167
PiZ	0	0,4	0/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	1	1,55	7/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Männer				Männer	
C2	2	1,79	7/29	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,14
PiZ	0	0,48	0/29	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	1	1,45	4/29	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Frauen				Frauen	
C2	2	1,85	5/13	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,747
PiZ	0	0,23	0/13	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	2	1,77	3/13	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

Tab. 19: Zentrilobuläre Fibrose – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt

3.2.1.5 Verfettung

Beide alkoholbelasteten Gruppen weisen eine statistisch signifikant stärkere Verfettung auf als die Nichtalkoholiker (s. Tab. 20). Zwischen den Alkoholgruppen (C2 und C2-PiZ) besteht dagegen kein signifikanter Unterschied. Fettlebern (Verfettung von > 50% der Hepatozyten) treten in den Gruppen C2 und C2-PiZ auf; unter den Nichtalkoholikern fehlen derart schwere Befunde.

Verfettung (in % des Parenchyms)					
Gruppe*	Median (%)	Mittelwert (%)	Fallzahl mit >50%	Mann-Whitney-Test	Signifikanzniveau (p)
Alle			Alle		
C2	17,5	30,14	9/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,451
PiZ	1	7,52	0/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	20	24,5	7/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Männer			Männer		
C2	20	28,72	5/29	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,132
PiZ	1	6,14	0/29	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	15	21,52	4/29	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,001
Frauen			Frauen		
C2	15	33,31	4/13	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,642
PiZ	1	10,62	0/13	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,083
C2-PiZ	30	31,15	3/13	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,009

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

Tab. 20: Parenchymverfettung – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt

3.2.1.6 Gallepigment

Insgesamt weisen nur wenige Fälle ausgeprägte Gallepigmentablagerungen auf, sodass die Mediane aller drei Gruppen lediglich den Mindestscorewert erreichen (s. Tab. 21). Die meisten Befunde mit pathologisch vermehrten Gallepigment finden sich unter den PiZ-positiven Alkoholikern. Das unterschiedliche Ausmaß der Gallepigmentablagerungen zwischen den einzelnen Gruppen ist statistisch signifikant.

Gallepigment (Scorewert 0 bis 3)					
Gruppe*	Median	Mittelwert	Fallzahl mit Scorewert 3	Mann-Whitney-Test	Signifikanzniveau (p)
Alle				Alle	
C2	0	0,31	1/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,048
PiZ	0	0,02	0/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,013
C2-PiZ	0	0,69	4/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Männer				Männer	
C2	0	0,24	1/29	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,103
PiZ	0	0,03	0/29	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,085
C2-PiZ	0	0,62	2/29	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,002
Frauen				Frauen	
C2	0	0,46	0/13	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,275
PiZ	0	0	0/13	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,071
C2-PiZ	0	0,85	2/13	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,007

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

Tab. 21: Gallepigment – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt

3.2.1.7 Eisenablagerungen

In keiner der drei Gruppen zeigen sich nennenswerten Eisenablagerungen (s. Tab. 22). Sowohl Mediane als auch Mittelwerte liegen unter 1. Es ergeben sich keine signifikanten Unterschiede beim Vergleich der verschiedenen Gruppen. Mesenchymale Eisenablagerungen finden sich tendenziell häufiger in den alkoholbelasteten Kollektiven C2 und C2-PiZ.

mesenchymale Eisenablagerungen (Scorewert 0 bis 3)					
Gruppe*	Median	Mittelwert	Fallzahl mit Scorewert 1-2	Mann-Whitney-Test	Signifikanzniveau (p)
Alle				Alle	
C2	0	0,38	15/42	k.U.**	
PiZ	0	0,26	9/42	k.U.	
C2-PiZ	0	0,4	15/42	k.U.	
Männer				Männer	
C2	0	0,52	14/29	k.U.	
PiZ	0	0,34	8/29	k.U.	
C2-PiZ	0	0,38	10/29	k.U.	
Frauen				Frauen	
C2	0	0,08	1/13	k.U.	
PiZ	0	0,08	1/13	k.U.	
C2-PiZ	0	0,46	5/13	k.U.	

- * Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker
 ** k.U. kein Unterschied im Kruskal-Wallis-Test ($p > 0,05$)

Tab. 22: Eisenpigment – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt (Teil 1)

parenchymale Eisenablagerungen (Scorewert 0 bis 3)					
Gruppe*	Median	Mittelwert	Fallzahl mit Scorewert 1-3	Mann-Whitney-Test	Signifikanzniveau (p)
Alle				Alle	
C2	0	0,43	14/42	k.U.**	
PiZ	0	0,39	11/42	k.U.	
C2-PiZ	0	0,4	11/42	k.U.	
Männer				Männer	
C2	0	0,52	12/29	k.U.	
PiZ	0	0,48	10/29	k.U.	
C2-PiZ	0	0,48	9/29	k.U.	
Frauen				Frauen	
C2	0	0,23	2/13	k.U.	
PiZ	0	0,17	1/13	k.U.	
C2-PiZ	0	0,23	2/13	k.U.	

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

** k.U. kein Unterschied im Kruskal-Wallis-Test ($p < 0,05$)

Tab. 22: Eisenpigment – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt (Teil 2)

3.2.1.8 Zellhydrops

Nur in den alkoholbelasteten Gruppen finden sich in Einzelfällen hydropisch geschwollene Hepatozyten in pathologischer Menge (Scorewert 3). Ein Zellhydrops ist in den Gruppen C2 und C2-PiZ signifikant häufiger als in der Gruppe der PiZ-positiven Nichtalkoholiker (s. Tab. 23). Ein Unterschied zwischen den alkoholbelasteten Gruppen besteht dagegen nicht.

Periportaler Zellhydrops (Scorewert 0-3)					
Gruppe*	Median	Mittelwert	Fallzahl mit Scorewert 3	Mann-Whitney-Test	Signifikanzniveau (p)
Alle				Alle	
C2	1	1,05	3/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,821
PiZ	0	0,12	0/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	1	0,98	1/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Männer				Männer	
C2	1	0,97	2/29	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,71
PiZ	0	0,17	0/29	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	1	0,86	1/29	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,001
Frauen				Frauen	
C2	1	1,23	1/13	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	1
PiZ	0	0	0/13	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	1	1,23	0/13	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

Tab. 23: Zellhydrops – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt

3.2.2 Immunhistochemische Befunde

3.2.2.1 Ausmaß der PiZ-Ablagerungen

Die Gruppe der PiZ-positiven Alkoholiker weist deutlich mehr Fälle mit ausgeprägten Ablagerungen des alpha1-Antitrypsinproteins auf als die Gruppe der PiZ-positiven Nichtalkoholiker (s. Tab. 24). Bei den Frauen ist dieser Unterschied statistisch signifikant.

PiZ-Ablagerungen (PiZ-Z-Maß; Scorewert 0 bis 4)				
Gruppe*	Median	Mittelwert	Fallzahl mit Scorewert 4	Signifikanzniveau (p) im Mann-Whitney-Test
Alle				Alle
PiZ	2	2,05	3/42	0,006
C2-PiZ	3	2,71	10/42	
Männer				Männer
PiZ	2	2,14	3/29	0,085
C2-PiZ	3	2,66	8/29	
Frauen				Frauen
PiZ	2	1,85	0/13	0,011
C2-PiZ	3	2,85	2/13	

* Gruppe PiZ: PiZ-positiv Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positiv Alkoholiker

Tab. 24: Ausmaß der PiZ-Ablagerungen – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung der PiZ-positiven Gruppen; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt

3.2.2.2 Form der PiZ-Ablagerungen

Fälle mit globulären PiZ-Ablagerungen finden sich in der alkoholbelasteten Gruppe C2-PiZ häufiger als bei den PiZ-positiven Nichtalkoholikern (s. Tab. 25). Betrachtet man Männer und Frauen gemeinsam, so ist dieser Unterschied statistisch signifikant.

Globuläre PiZ-Ablagerungen (PiZ-glob)		
Gruppe*	Fallzahl mit globulären Ablagerungen	Signifikanzniveau (p) im Mann-Whitney-Test
Alle		Alle
PiZ	5/42	0,017
C2-PiZ	13/42	
Männer		Männer
PiZ	4/29	0,084
C2-PiZ	9/29	
Frauen		Frauen
PiZ	1/13	0,093
C2-PiZ	4/13	

* Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

Tab. 25: Form der PiZ-Ablagerungen – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung der PiZ-positiven Gruppen; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt

3.2.2.3 Mallory-Denk-Hyalin

Die beiden alkoholbelasteten Gruppen C2 und C2-PiZ weisen jeweils statistisch signifikant stärkere Mallory-Denk-Hyalin Ablagerungen als die Nichtalkoholiker (Gruppe PiZ). Die Mediane und Mittelwerte der Gruppen C2 und C2-PiZ sind identisch bzw. fast identisch, sodass hier kein signifikanter Unterschied besteht (s. Tab. 26).

läppchenzentrales Mallory-Denk-Hyalin (Scorewert 0 bis 3)					
Gruppe*	Median	Mittelwert	Fallzahl mit Scorewert 3	Mann-Whitney-Test	Signifikanzniveau (p)
Alle			Alle		
C2	1	1,05	5/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,861
PiZ	0	0,07	0/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	1	1,07	6/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Männer			Männer		
C2	1	0,97	3/29	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,908
PiZ	0	0,11	0/29	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	1	1	4/29	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Frauen			Frauen		
C2	1	1,23	2/13	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,958
PiZ	0	0	0/13	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,001
C2-PiZ	1	1,23	2/13	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

Tab. 26: Mallory-Denk-Hyalin – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt

3.2.3 Laborbefunde

3.2.3.1 Alkalische Phosphatase

Die Gruppen C2 und C2-PiZ zeigen beide eine statistisch signifikant stärkere Erhöhung der alkalischen Phosphatase als die nichtalkoholbelastete Gruppe PiZ (s. Tab. 27). Zwischen den beiden alkoholbelasteten Gruppen selbst besteht kein signifikanter Unterschied. Mit Ausnahme der Mediane der männlichen PiZ-positiven Nichtalkoholiker, liegen die Mediane und die Mittelwerte aller drei Gruppen oberhalb des Referenzbereichs.

Alkalische Phosphatase (Referenzbereich Männer < 130 U/l, Frauen < 105 U/l)					
Gruppe*	Median [U/l]	Mittelwert [U/l]	Fallzahl mit erhöhter Alkalischer Phosphatase	Mann-Whitney-Test	Signifikanzniveau (p)
Alle			Alle		
C2	184	223,98	33/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,837
PiZ	121	175,92	20/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,001
C2-PiZ	178	249,22	27/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,003
Männer			Männer		
C2	162	210,89	20/29	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,363
PiZ	121	174,62	12/29	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,014
C2-PiZ	205,5	280,7	15/29	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,008
Frauen			Frauen		
C2	249	252,15	13/13	k.U.**	
PiZ	118,5	178,75	8/13	k.U.	
C2-PiZ	170,5	196,75	12/13	k.U.	

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

** k.U. kein Unterschied im Kruskal-Wallis-Test ($p > 0,05$)

Tab. 27: Alkalische Phosphatase – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt

3.2.3.2 γ -Glutamyl-Transferase

Sowohl Mediane als auch Mittelwerte der γ -GT liegen in allen drei Gruppen oberhalb des Referenzbereiches (s. Tab. 28). Die Enzymerhöhung fällt in der Gruppe PiZ allerdings deutlich geringer aus als in den beiden Alkoholgruppen. Zwischen PiZ-positiven Nichtalkoholikerinnen und PiZ-negativen Alkoholikerinnen besteht ein statistisch signifikanter Unterschied.

γ-Glutamyl-Transferase (y-GT)					
(Referenzbereich Männer < 61 U/l, Frauen < 36 U/l)					
Gruppe*	Median [U/l]	Mittelwert [U/l]	Fallzahl mit erhöhter y-GT	Mann-Whitney-Test	Signifikanz-niveau (p)
Alle			Alle		
C2	161,5	279,45	33/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,258
PiZ	63	103,78	22/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,002
C2-PiZ	118	194,43	25/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,055
Männer			Männer		
C2	162	306,38	21/29	k.U.**	
PiZ	63	117,82	15/29	k.U.	
C2-PiZ	154	220,43	15/29	k.U.	
Frauen			Frauen		
C2	120	219,38	12/13	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,211
PiZ	54,5	71	7/13	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,009
C2-PiZ	93	144,58	10/13	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,112

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

** k.U. kein Unterschied im Kruskal-Wallis-Test ($p > 0,05$)

Tab. 28: γ -Glutamyl-Transferase – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt

3.2.3.3 Glutamat-Oxalacetat-Transferase

Die meisten Fälle mit pathologisch erhöhter GOT treten in der doppelt belasteten Gruppe C2-PiZ auf; Median und Mittelwert liegen hier beide oberhalb des Normbereiches (s. Tab. 29). Die Gruppe C2-PiZ weist jeweils signifikant höhere GOT-Werte auf als die einfach belasteten Gruppen C2 und PiZ. Beim Vergleich der beiden einfach belasteten Gruppen errechnet sich kein statistisch signifikanter Unterschied.

Glutamat-Oxalacetat-Transferase (GOT) (Referenzbereich Männer < 36 U/l, Frauen < 31 U/l)					
Gruppe*	Median [U/l]	Mittelwert [U/l]	Fallzahl mit erhöhter GOT	Mann-Whitney-Test	Signifikanz-niveau (p)
Alle			Alle		
C2	25	39,2	13/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,04
PiZ	21,5	56	7/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,35
C2-PiZ	38	70,39	19/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,007
Männer			Männer		
C2	23	40	7/29	k.U.**	
PiZ	24	55,62	6/29	k.U.	
C2-PiZ	39	79,7	12/29	k.U.	
Frauen			Frauen		
C2	30	37,54	6/13	k.U.	
PiZ	20	56,83	1/13	k.U.	
C2-PiZ	38	56,08	7/13	k.U.	

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

** k.U. kein Unterschied im Kruskal-Wallis-Test ($p > 0,05$)

Tab. 29: Glutamat-Oxalacetat-Transferase – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt

3.2.3.4 Glutamat-Pyruvat-Transaminase

Die Fallzahl mit erhöhter GPT ist in allen drei Gruppen etwa gleich. Alle Mediane befinden sich innerhalb des Referenzbereiches, wobei die der PiZ-positiven Gruppen tendenziell geringfügig höher liegen als die der „reinen“ Alkoholgruppe. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen bestehen allerdings nicht.

3.2.3.5 Cholinesterase

Sowohl Mediane als auch Mittelwerte der Cholinesterase sind in den Alkoholgruppen C2 und C2-PiZ pathologisch erniedrigt, wohingegen sich die der Gruppe PiZ im Referenzbereich befinden (s. Tab. 30). Obwohl in der Gruppe C2 die meisten Fälle mit pathologisch erniedrigter CHE auftreten, ist der Median der doppelt belasteten Gruppe C2-PiZ der niedrigste. Dies spricht dafür, dass unter den PiZ-positiven Alkoholikern einzelne Patienten mit besonders stark verminderter CHE sein müssen. Ein signifikanter Unterschied besteht zwischen den Gruppen C2 und C2-PiZ nicht.

Vergleicht man die Alkoholgruppen mit der nichtalkoholbelasteten Gruppe PiZ, so weist letztere jeweils statistisch signifikant höhere Enzymwerte auf.

Cholinesterase (CHE) (Referenzbereich m/w < 40 Jahre 4300-11200 U/l, > 40 Jahre 5300-12900 U/l)					
Gruppe*	Median [U/l]	Mittelwert [U/l]	Fallzahl mit verminderter CHE	Mann-Whitney-Test	Signifikanzniveau (p)
Alle				Alle	
C2	3047,5	3555,77	25/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,242
PiZ	6330	6667,94	14/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	< 0,001
C2-PiZ	2500	3394,68	15/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Männer				Männer	
C2	3002,5	3475,75	18/29	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,102
PiZ	6815	6796,1	8/29	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,001
C2-PiZ	2018	2830,17	10/29	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,001
Frauen				Frauen	
C2	3110,5	3715,8	7/13	k.U.**	
PiZ	4780	6434,91	6/13	k.U.	
C2-PiZ	3015	4362,43	5/13	k.U.	

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

** k.U. kein Unterschied im Kruskal-Wallis-Test ($p > 0,05$)

Tab. 30: Cholinesterase – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt

3.2.3.6 Bilirubin

In der doppelt belasteten Gruppe C2-PiZ finden sich die meisten Fälle mit pathologisch erhöhten Bilirubin-Werten (s. Tab. 31). Die Werte dieser Gruppe liegen statistisch signifikant höher als die der beiden einfach belasteten Gruppen C2 und PiZ. Ausnahme sind die Alkoholikerinnen, zwischen denen kein signifikanter Unterschied besteht. Vergleicht man die Gruppen C2 und PiZ miteinander, so liegt nur bei den Frauen ein signifikanter Unterschied vor, mit einer stärkeren Erhöhung der Bilirubinwerte bei den PiZ-negativen Alkoholikerinnen.

Gesamt-Bilirubin (Referenzbereich < 1,0 mg/dl)					
Gruppe*	Median	Mittelwert	Fallzahl mit erhöhtem Bilirubin	Mann-Whitney-Test	Signifikanzniveau (p)
Alle			Alle		
C2	1,1	2,96	20/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,011
PiZ	0,6	0,99	15/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,041
C2-PiZ	2,73	10,66	27/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Männer			Männer		
C2	0,9	2,39	13/29	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,03
PiZ	0,8	1,07	13/29	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,378
C2-PiZ	2,25	11	18/29	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,003
Frauen			Frauen		
C2	1,76	4,61	7/13	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,255
PiZ	0,6	0,8	2/13	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,037
C2-PiZ	2,85	10,04	9/13	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,002

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

Tab. 31: Bilirubin – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt

3.2.3.7 Quick-Wert

Sowohl Mediane als auch Mittelwerte des Quick-Wertes liegen in allen drei Gruppen innerhalb des Referenzbereiches (s. Tab. 32). Die doppelt belastete Gruppe C2-PiZ zeigt die meisten Fälle mit pathologisch erniedrigtem Quick-Wert; die statistischen Eckdaten dieser Gruppe bewegen sich nur noch knapp im unteren Normbereich. Die höchsten Werte finden sich in der nichtalkoholbelasteten Gruppe PiZ; sie unterscheidet sich statistisch signifikant von den beiden Alkoholgruppen. Vergleicht man wiederum die beiden Alkoholgruppen miteinander, so weisen die „reinen“ Alkoholiker signifikant höhere Quick-Werte auf als die Gruppe C2-PiZ.

Quick-Wert (Referenzbereich $\geq 70\%$)					
Gruppe*	Median [%]	Mittelwert [%]	Fallzahl mit Quick-Wert < 70%	Mann-Whitney-Test	Signifikanzniveau (p)
Alle			Alle		
C2	92	84,33	9/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,038
PiZ	100	97,43	3/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,009
C2-PiZ	74,5	72,47	13/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Männer			Männer		
C2	94	85,52	6/29	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,037
PiZ	100	99,58	1/29	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,033
C2-PiZ	72,5	69,63	9/29	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	< 0,001
Frauen			Frauen		
C2	85	81,69	3/13	k.U.**	
PiZ	100	92,36	2/13	k.U.	
C2-PiZ	83	77,67	4/13	k.U.	

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

** k.U. kein Unterschied im Kruskal-Wallis-Test ($p > 0,05$)

Tab. 32: Quick-Wert – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt

3.2.3.8 C-reaktives Protein

In allen drei Gruppen treten etwa gleich viele Fälle mit erhöhten CRP-Werten auf (s. Tab. 33). Alle Mediane – mit Ausnahme des Wertes der PiZ-negativen Alkoholikerinnen – liegen im Normbereich, wobei die PiZ-positiven Nichtalkoholiker die geringsten Werte erreichen. Der Unterschied der Gruppe PiZ zu den beiden alkoholbelasteten Gruppen C2 und C2-PiZ ist jeweils statistisch signifikant.

C-reaktives Protein (CRP) (Referenzbereich < 5 mg/l)					
Gruppe*	Median [U/l]	Mittelwert [U/l]	Fallzahl mit erhöhtem CRP	Mann-Whitney-Test	Signifikanz-niveau (p)
Alle			Alle		
C2	1,2	9,88	6/42	Gruppe C2 - Gruppe C2-PiZ	0,623
PiZ	0,2	6,02	7/42	Gruppe C2 - Gruppe PiZ	0,033
C2-PiZ	2,8	13,39	5/42	Gruppe PiZ - Gruppe C2-PiZ	0,039
Männer			Männer		
C2	1,2	4,1	3/29	k.U.**	
PiZ	0,2	5,99	6/29	k.U.	
C2-PiZ	2,2	10,28	3/29	k.U.	
Frauen			Frauen		
C2	8,25	20,49	3/13	k.U.	
PiZ	0,15	6,08	1/13	k.U.	
C2-PiZ	3	19,6	2/13	k.U.	

* Gruppe C2: PiZ-negative Alkoholiker
 Gruppe PiZ: PiZ-positive Nichtalkoholiker
 Gruppe C2-PiZ: PiZ-positive Alkoholiker

** k.U. kein Unterschied im Kruskal-Wallis-Test ($p > 0,05$)

Tab. 33: C-reaktives Protein – Eckdaten der deskriptiven Statistik sowie Unterschiedstestung; statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt

3.2.4 Vergleichende Zusammenfassung relevanter Labor- und Histologiebefunde

Tab. 34 fasst diejenigen histologischen und labortechnischen Parameter zusammen, in denen sich PiZ-positive Alkoholiker von PiZ-negativen Alkoholikern signifikant unterscheiden.

Parameter/histologisches Kriterium	bei Gruppe C2-PiZ ...	Signifikanzniveau (p)
alle		
Fibrosegrad	... intensiviert	0,006
Gallepigment	... intensiviert	0,048
lymphozytäres Infiltrat	... intensiviert	0,007
Quick-Wert	... pathologisch vermindert	0,038
Gesamt-Bilirubin	... pathologisch erhöht	0,011
GOT	... pathologisch erhöht	0,04
Männer		
Fibrosegrad	... intensiviert	0,014
Quick-Wert	... pathologisch vermindert	0,037
Gesamt-Bilirubin	... pathologisch erhöht	0,03
Frauen		
lymphozytäres Infiltrat	... intensiviert	0,011

Tab. 34: Statistisch signifikante Veränderungen von Labor- und Gewebefunden der PiZ-positiven Alkoholiker (Gruppe C2-PiZ) im Vergleich zu den PiZ-negativen Alkoholikern (Gruppe C2)

Tab. 35 fasst diejenigen histologischen und labortechnischen Parameter zusammen, in denen sich PiZ-negative Alkoholiker von PiZ-positiven Nichtalkoholikern signifikant unterscheiden.

Parameter/histologisches Kriterium	bei Gruppe C2...	Signifikanzniveau (p)
alle		
Fibrosegrad	... intensiviert	< 0,001
zentrilobuläre Fibrose	... intensiviert	< 0,001
Verfettung	... intensiviert	< 0,001
Gallepigment	... intensiviert	0,013
lymphozytäres Infiltrat	... intensiviert	0,001
granulozytäres Infiltrat	... intensiviert	< 0,001
periportaler Zellhydrops	... intensiviert	< 0,001
läppchenzentrales Mallory-Denk-Hyalin	... intensiviert	< 0,001
AP	... pathologisch erhöht	0,001
γ -GT	... pathologisch erhöht	0,002
Quick-Wert	... pathologisch vermindert	0,009
Gesamt-Bilirubin	... pathologisch erhöht	0,041
CHE	... pathologisch vermindert	< 0,001
CRP	... pathologisch erhöht	0,033
Männer		
Fibrosegrad	... intensiviert	0,002
zentrilobuläre Fibrose	... intensiviert	< 0,001
Verfettung	... intensiviert	< 0,001
lymphozytäres Infiltrat	... intensiviert	0,011
granulozytäres Infiltrat	... intensiviert	< 0,001
periportaler Zellhydrops	... intensiviert	< 0,001
läppchenzentrales Mallory-Denk-Hyalin	... intensiviert	< 0,001
AP	... pathologisch erhöht	0,014
Quick-Wert	... pathologisch vermindert	0,033

CHE	... pathologisch vermindert	0,001
Frauen		
Fibrosegrad	... intensiviert	< 0,001
zentrilobuläre Fibrose	... intensiviert	< 0,001
lymphozytäres Infiltrat	... intensiviert	0,029
granulozytäres Infiltrat	... intensiviert	< 0,001
periportaler Zellhydrops	... intensiviert	< 0,001
läppchenzentrales Mallory-Denk-Hyalin	... intensiviert	0,001
γ -GT	... pathologisch erhöht	0,009
Gesamt-Bilirubin	... pathologisch erhöht	0,037

Tab. 35: Statistisch signifikante Verschlechterung von Labor- und Gewebefunden der PiZ-negativen Alkoholiker (Gruppe C2) im Vergleich zu den PiZ-positiven Nichtalkoholikern (Gruppe PiZ)

Vergleicht man die Histologiebefunde bzw. Laborparameter der beiden PiZ-positiven Gruppen miteinander (PiZ und C2-PiZ), so sind die meisten Ergebnisse bei den PiZ-positiven Alkoholikern statistisch signifikant schlechter. Lediglich die folgenden Werte sind *nicht* statistisch signifikant verändert: Eisenblagerungen in Parenchym- und Mesenchymzellen, AP (Frauen), γ -GT, Quick (Frauen), CHE (Frauen), GOT (Frauen) und GPT.

3.2.5 Korrelationen

Die folgenden drei Tabellen stellen die Korrelationen ausgewählter Histologie- und Laborbefunde je innerhalb der Gruppen PiZ, C2 und C2-PiZ dar (s. Tab. 36 bis 38). Aufgeführt sind nur die Ergebnisse, deren Korrelationskoeffizient $> 0,5$ bzw. $< -0,5$ (Spearman) beträgt und deren Signifikanzniveau $p < 0,05$ liegt.

Gruppe PiZ			
Parameter 1	Parameter 2	Spearman Korrelationskoeffizient	Signifikanzniveau (p)
Alle			
Fibrosegrad	lymphozytäre Infiltration	0,58	< 0,001
Männer			
Fibrosegrad	lymphozytäre Infiltration	0,653	< 0,001
PiZ-Ablagerungen	lymphozytäre Infiltration	0,625	< 0,001
PiZ-Ablagerungen	Quick-Wert	-0,515	0,007
PiZ-Ablagerungen	Fibrosegrad	0,624	< 0,001
Frauen			
Fibrosegrad	CHE	-0,661	0,027
Fibrosegrad	Quick-Wert	-0,651	0,03

Tab. 36: Korrelationen ausgewählter Histologie- und Laborbefunde der PiZ-positiven Nichtalkoholiker (Gruppe PiZ)

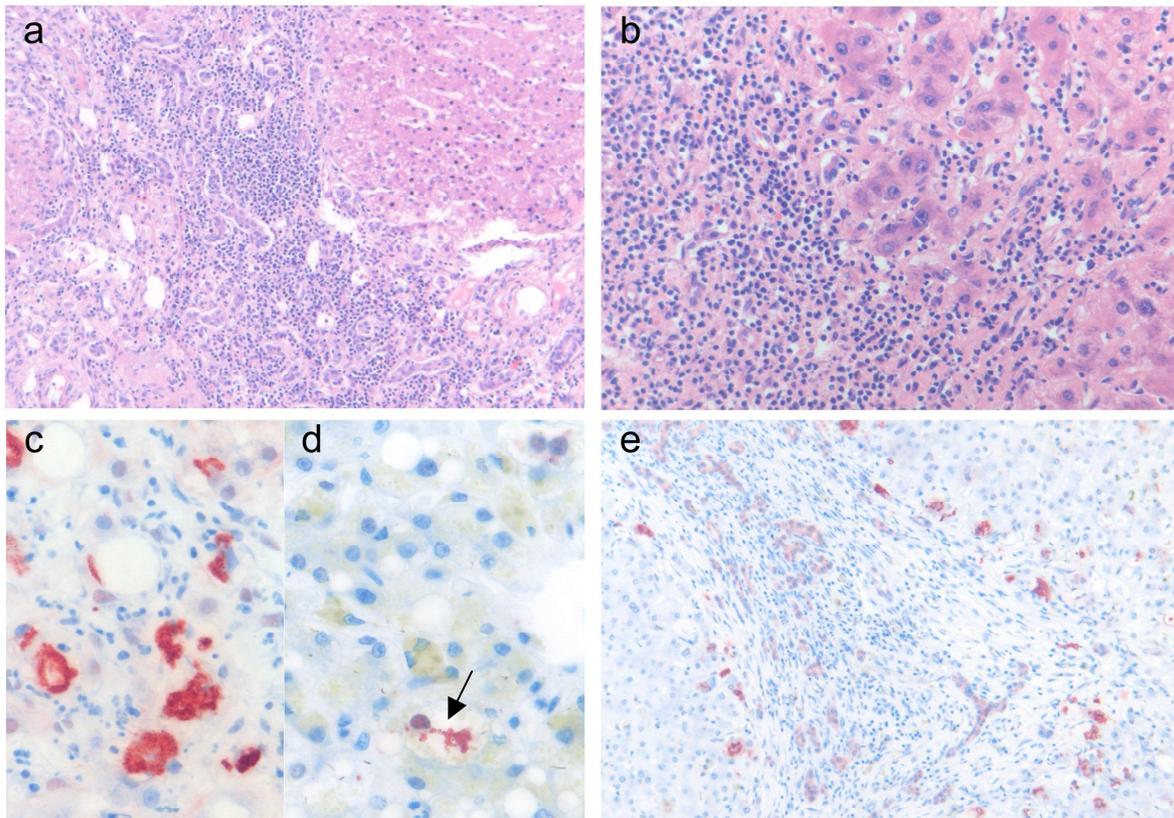
Gruppe C2-PiZ			
Parameter 1	Parameter 2	Spearman Korrelationskoeffizient	Signifikanzniveau (p)
Alle			
zentrilobuläre Fibrose	Mallory-Denk-Hyalin (periportal)	0,502	< 0,001
Quick-Wert	CHE	0,774	< 0,001
Quick-Wert	Gesamt-Bilirubin	-0,501	0,001
Männer			
Quick-Wert	CHE	0,886	< 0,001

Tab. 37: Korrelationen ausgewählter Histologie- und Laborbefunde der PiZ-positiven Alkoholiker (Gruppe C2-PiZ)

Gruppe C2			
Parameter 1	Parameter 2	Spearman Korrelationskoeffizient	Signifikanzniveau (p)
Alle			
Fibrosegrad	lymphozytäre Infiltration	0,559	< 0,001
Fibrosegrad	Mallory-Denk-Hyalin (periportal)	0,654	< 0,001
zentrilobuläre Fibrose	Mallory-Denk-Hyalin (periportal)	0,656	< 0,001
zentrilobuläre Fibrose	Mallory-Denk-Hyalin (läppchenzentral)	0,579	< 0,001
Quick-Wert	Gesamt-Bilirubin	-0,568	< 0,001
AP	Gesamt-Bilirubin	0,519	0,002
Quick-Wert	CHE	0,5	0,005
Männer			
Fibrosegrad	Mallory-Denk-Hyalin (läppchenzentral)	0,663	< 0,001
Fibrosegrad	lymphozytäre Infiltration	0,522	0,004
AP	Gesamt-Bilirubin	0,5	0,011
Frauen			
Fibrosegrad	lymphozytäre Infiltration	0,817	0,001
Quick-Wert	Gesamt-Bilirubin	-0,89	0,001

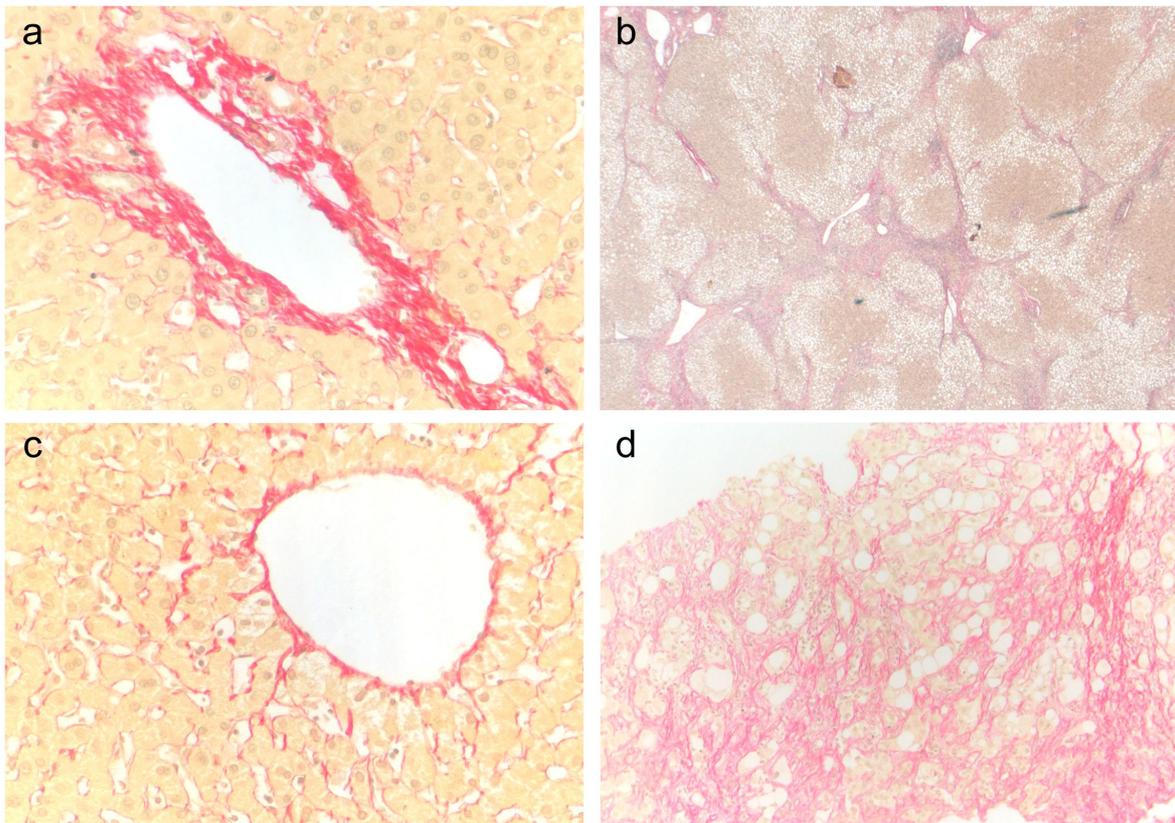
Tab. 38: Korrelationen ausgewählter Histologie- und Laborbefunde der PiZ-negativen Alkoholiker (Gruppe C2)

Tafel 1: Graduierung der Leberentzündung und der Mallory-Denk-Hyalin- Ablagerungen



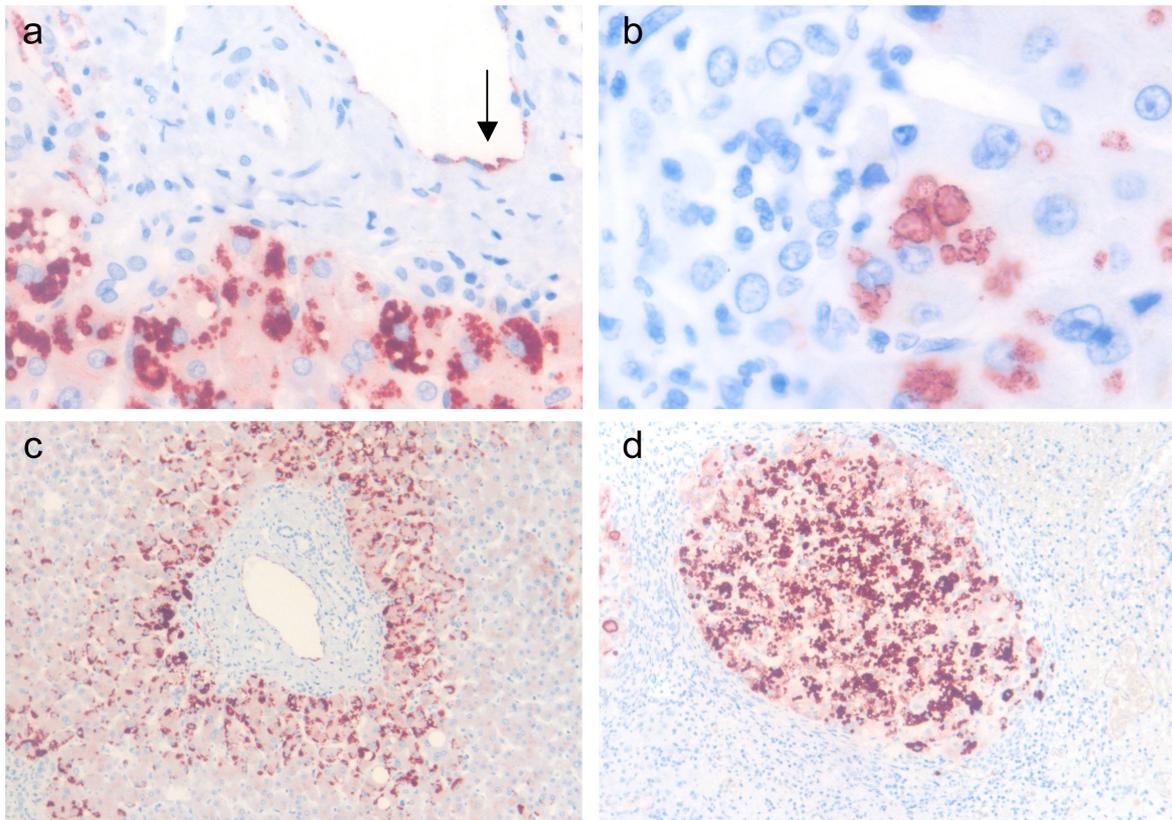
- a** Lymphozytäre Infiltration (portal Grad 3; periportal Grad 3)
- b** Lymphozytäre Infiltration (periportal Grad 3)
- c** Granulozytäre Infiltration und Mallory-Denk-Hyalin (Ubiquitin-Antikörper) (jeweils Grad 3)
- d** Zellhydrops, Gallepigment und Mallory-Denk-Hyalin (Ubiquitin-Antikörper) (Pfeil)
- e** Periportale Mallory-Denk-Hyalin Ablagerungen (Ubiquitin-Antikörper) (Grad 3)

Tafel 2: Graduierung der Leberfibrose



- a** Periportale Fibrose (Siriusrot) (Grad 1)
- b** Inkomplette Zirrhose (Elastica-van Gieson) (Fibrose Grad 4)
- c** Zentrilobuläre Fibrose (Siriusrot) (Grad 1)
- d** Zentrilobuläre Fibrose (Siriusrot) (Grad 3)

Tafel 3: Graduierung der PiZ-Ablagerungen



- a** Granuläre PiZ-Ablagerungen; Größe der PiZ-Ablagerungen $< 7 \mu\text{m}$ Durchmesser
Zusätzlich Anfärbung des Endothels einer Portalvene – positive interne Kontrolle (Pfeil)
- b** Globuläre PiZ-Ablagerungen – Größe der PiZ-Ablagerungen $\geq 7 \mu\text{m}$ Durchmesser
- c** Zirkumportale PiZ-Ablagerungen (Grad 3)
- d** Pseudolappchen ausfüllende PiZ-Ablagerungen (Grad 4)

In allen Abbildungen Darstellung der PiZ-Ablagerungen mit dem Antikörper ATZ11.

4 Diskussion

Diese auf Patienten mit einer heterozygoten PiZ-Mutation des AAT-Gens konzentrierte Arbeit verfolgt zwei Fragestellungen:

1. „PiZ – Malignome“ Besteht bei diesem Patientenkollektiv ein erhöhtes extrahepatisches Malignomrisiko?
2. „PiZ – Alkohol“ Inwieweit aggraviert die heterozygote PiZ-Mutation eine alkoholtoxische Leberschädigung?

4.1 „PiZ – Malignome“

Wie eingangs erwähnt (s. Abschnitt 1.3.6), werden neben primären Karzinomen der Leber auch verschiedene primär extrahepatische maligne Tumorerkrankungen mit dem alpha1-Antitrypsinmangel in Verbindung gebracht. Während bei hepatischen Primärtumoren die durch die PiZ-Retention bedingte chronische Leberschädigung die Tumorentstehung fördert, stellt bei extrahepatischen Malignomen das aus dem AAT-Mangel resultierende Ungleichgewicht zwischen Elastase und Antielastase möglicherweise die Ausgangsbasis für Tumorentstehung und -progression dar:

1. Neutrophilen-Elastase im Überschuss:

Die übermäßige Aktivität der Neutrophilen-Elastase begünstigt die Invasion und Metastasierung der Tumorzellen. Zum einen ist diese Protease selbst in der Lage Strukturproteine der extrazellulären Matrix (EZM) abzubauen, zum anderen aktiviert sie verschiedene Matrix Metalloproteinasen (MMPs), die ihrerseits durch die Degradation von EZM-Bestandteilen die Tumorausbreitung im Gewebe erleichtern (Shamamian et al., 2001).

Eine andere Vorstellung ist, dass die Neutrophilen-Elastase über den Tumornekrosefaktor-Signalweg direkt in die Karzinogenese eingreift. Die Neutrophilen-Elastase ist in der Lage, diesen Signalweg zu hemmen, mit der Folge einer verminderten Tumorzell-Apoptose und einer gesteigerten Zellproliferation (Sun et Yang, 2004).

2. AAT-Defizit:

Die Proteinfamilie der Serpine, einschließlich alpha1-Antitrypsin, übt einen hemmenden Einfluss auf das Zellwachstum aus. Yao et al. (2000) wiesen diese inhibitorische Funktion der Serpine an einer Zelllinie von Kolonkarzinomzellen nach. In Kongruenz zu dieser Erkenntnis, zeigten Zelvyte et al. (2003), dass AAT die Proliferation von Brustkrebszellen in vitro unterdrücken kann. Wichtig hierfür scheint zu sein, dass AAT die Expression von IL-6, einem

bedeutenden Wachstumsfaktor für verschiedene Karzinome, reduziert (Zelvyte et al., 2003). Weiterhin ist AAT, wie auch andere Serpine, in der Lage die Aktivierung von NFκB zu unterdrücken. Die Blockade dieses Transkriptionsfaktors wird in Zusammenhang gebracht mit vermindertem Tumorwachstum und geringerer Metastasierung (Zelvyte et al., 2003).

Untersuchungen von Huang et al. (2004) zeigten, dass AAT antiangiogenetische Aktivität besitzt und die Apoptose in Tumorendothelien induzieren kann. Während die Fähigkeit zur Hemmung der Angiogenese unabhängig von der proteolytischen Funktion ist, führen S- und Z-Mutationen des AAT-Moleküls dagegen zu einem Verlust der antiangiogenetischen Wirkung. Diese inhibitorische Aktivität von AAT stellt eine mögliche Erklärung dafür dar, dass eine verminderte lokale AAT-Expression mit einem aggressiveren Tumorwachstum zu korrelieren scheint (Huang et al., 2004).

In unserer Untersuchung finden sich bei dem Vergleich von 157 PiZ-positiven Patienten mit 157 PiZ-negativen Patienten in der PiZ-positiven Gruppe 54, in der PiZ-negativen Gruppe 51 Patienten mit extrahepatischem malignem Tumorleiden. Die statistische Auswertung zeigt, dass der positive PiZ-Status nicht mit einem erhöhten extrahepatischen Malignomrisiko einhergeht (auch bei getrennter Betrachtung von Männern und Frauen).

Eine mögliche Erklärung dafür, dass sich hier kein erhöhtes Tumorrisiko der PiZ-positiven Patienten abzeichnet, ist, dass auch die PiZ-negativen Fälle der Vergleichsgruppe aus dem Gesamtkollektiv der Leberbiopsien und -resektate stammen. Das heißt, auch diese Patienten müssen vorher in irgendeiner Form klinisch auffällig geworden sein, z.B. durch maligne Tumorerkrankungen, und reflektieren daher nicht den allgemeinen Bevölkerungsdurchschnitt.

Auch das Auftreten maligner Tumoren innerhalb der drei Gruppen der Fragestellung „PiZ – Alkohol“ wird begutachtet (s. Tabellen 13 und 14). Interessanterweise zeigt sich hier, dass die Gruppe der PiZ-positiven Nichtalkoholiker, die mit der höchsten Anzahl an Tumorpatienten ist. 20 der 42 Personen dieser Gruppe leiden an einer malignen Tumorerkrankung. In den Gruppen C2 und C2-PiZ sind die entsprechenden Zahlen dagegen deutlich geringer.

Die wahrscheinliche Erklärung für dieses Phänomen ist, dass die Personen der alkoholbelasteten Gruppen C2 und C2-PiZ aufgrund ihrer Alkoholkrankheit klinisch auffällig wurden und daher in unserem Gesamtkollektiv der Leberbiopsien und -resektaten erscheinen. Bei den PiZ-positiven Nichtalkoholikern dagegen fehlt der pathogenetische Einfluss des Alkohols, sodass hier erst andere Ursachen, wie z.B. maligne Tumorerkrankungen, Anlass zu diagnostischen Maßnahmen geben mussten.

4.2 „PiZ – Alkohol“

In dieser Arbeit untersuchen wir inwieweit der heterozygote PiZ-Status eine alkoholbedingte Leberschädigung aggraviert. Hierfür vergleichen wir verschiedene histologische und laborchemische Parameter von drei Patientengruppen: PiZ-negative Alkoholiker (Gruppe C2), PiZ-positive Nichtalkoholiker (Gruppe PiZ) und PiZ-positive Alkoholiker (Gruppe C2-PiZ).

Beim Vergleich der jeweils einzeln belasteten Gruppen C2 und PiZ, zeigt sich, dass die Noxe Alkohol die Leber deutlich stärker belastet als das PiZ-Allel. Die meisten der histologischen und laborchemischen Befunde der PiZ-negativen Alkoholiker sind statistisch signifikant schlechter als die der nichtalkoholbelasteten PiZ-positiven Patienten. Dies trifft zu für die periportale und zentrilobuläre Verfaserung, die Verfettung von Parenchymzellen, die Gallepigmentablagerungen, die lymphozytäre sowie granulozytäre Infiltration, den Zellhydrops und das Mallory-Denk-Hyalin, weiterhin für die alkalische Phosphatase, die γ -GT, den Quick-Wert, das Bilirubin, die Cholinesterase sowie das C-reaktive Protein.

Die alkoholtoxisch geschädigte Leber wird durch das gleichzeitige Vorliegen des PiZ-Allels zusätzlich belastet. Unsere Ergebnisse zeigen, dass das Ausmaß der Leberfibrose, der Cholestase sowie der lymphozytären Infiltration bei den PiZ-positiven Alkoholikern statistisch signifikant stärker ausfallen als bei den PiZ-negativen Alkoholikern.

Weitere histologische Befunde wie die Parenchymverfettung und die granulozytäre Infiltration sind in der Gruppe C2-PiZ nur tendenziell ausgeprägter als in der Gruppe C2. Die Doppelbelastung beeinträchtigt auch verschiedene Leberfunktionen stärker als der Faktor Alkohol alleine, was sich in den entsprechenden Laborbefunden widerspiegelt: Die Ergebnisse für den Quick-Wert, das Bilirubin und die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase sind in der Gruppe C2-PiZ statistisch signifikant schlechter als in der Gruppe C2.

4.2.1 Entzündliche Infiltration

Der isolierte alpha1-Antitrypsinmangel kann auch bei heterozygotem Erbgang der PiZ-Mutation mit einer Entzündungsreaktion in der Leber einhergehen; dabei wird das entzündliche Infiltrat in der Regel von Lymphozyten dominiert und ist insbesondere portal lokalisiert (WHO, 1997). Ein wichtiger Schritt in der Initiierung des Entzündungsgeschehens, sowohl in der Leber als auch in der Lunge, soll die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF κ B infolge der AAT-Akkumulation sein (Rudnick und Perlmutter, 2005). Im Rahmen einer rein alkoholischen Leberschädigung steht die lymphozytäre Entzündung meist im Hintergrund.

Die hier untersuchten Fälle zeigen insgesamt eine eher gering ausgeprägte lymphozytär-entzündliche Reaktion im Sinne einer chronischen Hepatitis. Es fällt auf, dass sich die stärksten lymphozytären Infiltrationen in der Gruppe der PiZ-positiven Alkoholiker finden, und dass diese sich statistisch signifikant von den beiden einfach belasteten Gruppen unterscheidet. Daraus folgt, dass der Kofaktor PiZ-Allel die wenngleich geringe alkohol-induzierte lymphozytäre Infiltration signifikant verstärken kann. Der isolierte alpha1-Antitrypsinmangel führt in der vorliegenden Untersuchung der PiZ-Heterozygoten allerdings zu keiner nennenswerten lymphozytären Entzündung.

Neutrophile Granulozyten dominieren klassischerweise das entzündliche Infiltrat der alkoholtoxischen Steatohepatitis. Dabei finden sich die Entzündungszellen häufig in der Nähe Mallory-Denk-Hyalin enthaltender Hepatozyten, da diese chemotaktische Faktoren sezernieren und so die Entzündungszellen anlocken (Peters et al., 1983). Auch alpha1-Antitrypsinablagerungen scheinen direkt chemotaktisch auf Granulozyten zu wirken: Mahadeva et al. (2005) konnten nachweisen, dass AAT-Polymere in der Lunge zu einem verstärkten Einstrom von neutrophilen Granulozyten führen. Dass dies möglicherweise auch für die Leber gilt, legt die von uns gefundene positive Korrelation zwischen dem Ausmaß der PiZ-Ablagerungen und der periportal Granulozyteninfiltration in der Gruppe der PiZ-positiven Nichtalkoholiker nahe. Weiterhin zeigt unsere Untersuchung, dass in den beiden alkoholbelasteten Gruppen statistisch signifikant ausgeprägtere granulozytäre Infiltrate vorliegen als bei den Nichtalkoholikern; zwischen der PiZ-positiven Alkoholgruppe und der PiZ-negativen Alkoholgruppe besteht dagegen kein nennenswerter Unterschied. Aus diesen Ergebnissen lässt sich folgern, dass der bestimmende Faktor bezüglich der granulozytären Entzündung der Alkohol ist, und dass diese durch das zusätzliche Vorliegen des PiZ-Allels kaum beeinflusst wird.

4.2.2 Fibrose und Zirrhose

Die Leberfibrose ist das wichtigste morphologische Zeichen einer chronisch progredienten Lebererkrankung, insbesondere, wenn sie von entzündlichem Infiltrat begleitet ist. Hierbei differenzieren wir zwischen der periportal einsetzenden, über Septen zur Zirrhose fortschreitenden Fibrose und der zentrilobulären perizellulären Verfaserung. Die periportale/periseptale Fibrose beruht auf einer Schädigung primär hier positionierter Hepatozyten. Die zentrilobuläre Fibrose hingegen ist Folge einer zentrilobulären Parenchymschädigung mit Aktivierung perisinusoidaler Myofibroblasten, wie sie die alkoholtoxische Leberschädigung kennzeichnet. Wir betrachten bei der Untersuchung des

Fibrosestadiums die periportale und die zentrilobuläre Verfaserung getrennt voneinander. Hierbei fällt auf, dass das Ausmaß der periportalen Faservermehrung durch den zusätzlichen Faktor PiZ-Allel deutlich intensiviert wird – die doppelt belastete Gruppe C2-PiZ erreicht statistisch signifikant höhere Scorewerte als die „reine“ Alkoholgruppe. Anders verhält sich die Situation bei der zentrilobulären Verfaserung: Hier scheint das Vorliegen eines alpha1-Antitrypsinmangels eine alkohol-induzierte Fibrose weniger zu beeinflussen, da sich zwischen den beiden alkohol-belasteten Kollektiven kein statistisch relevanter Unterschied nachweisen lässt.

Alpha1-Antitrypsinmangelpatienten neigen nur dann zu einer verstärkten Fibrogenese, wenn tatsächlich eine hepatische AAT-Akkumulation vorliegt (Norman et al., 1997). Dieser Umstand impliziert, dass die Leberschädigung eine direkte Folge der pathologischen AAT-Ablagerungen ist. Da sich das mutierte Protein typischerweise besonders in periportalen/periseptalen Leberzellen ansammelt (Fischer et al., 2000), sind diese Areale in stärkerem Maße dem hepatotoxischen Einfluss der AAT-Ablagerungen ausgesetzt. Dies könnte die von uns beobachtete periportal betonte Faservermehrung in der Gruppe C2-PiZ erklären. Unterstützt wird diese Hypothese auch dadurch, dass der periportale Fibrosegrad positiv korreliert ist mit dem Ausmaß der PiZ-Ablagerungen. In der Gruppe PiZ ist nicht nur die periportale sondern auch die zentrilobuläre Fibrose positiv korreliert mit dem Ausmaß der PiZ-Ablagerungen. Stark ausgeprägte PiZ-Ablagerungen, die auch zentrilobuläre Parenchymbezirke betreffen, können also neben der periportalen auch für eine zentrilobuläre Verfaserung verantwortlich sein.

Anders ist die Situation in der alkoholbelasteten PiZ-positiven Gruppe. Hier findet sich keine Korrelation von zentrilobulärer Fibrose und PiZ-Ablagerungen, wohl aber zwischen zentrilobulärer Fibrose und den periportalen Mallory-Denk-Hyalin Ablagerungen.

Weiterhin finden wir in allen drei Gruppen eine positive Korrelation zwischen dem periportalen Fibrosegrad und der lymphozytären Infiltration. Dieser Befund lässt sich am ehesten damit erklären, dass Lymphozyten in der Lage sind Fibroblasten zu stimulieren und die Kollagensynthese anzuregen mit der Folge einer zunehmenden Parenchymverfaserung (Casini et al., 1985).

4.2.3 alpha1-Antitrypsinablagerungen

Das infolge der PiZ-Mutation fehlgefaltete alpha1-Antitrypsinmolekül neigt zur Polymerisation im Endoplasmatischen Retikulum. Die entstandenen Polymerisationsprodukte können nicht sezerniert werden, wodurch es zur AAT-Retention im ER kommt (Sidhar et al., 1995). Derartige AAT-Ablagerungen finden sich insbesondere in periportal gelegenen Hepatozyten (Fischer et al., 2000). Ein wichtiger Mechanismus, durch den sich die Leberzelle des mutierten alpha1-Antitrypsins zu entledigen versucht, ist der Ubiquitin-Proteasom-Pfad (Perlmutter et al., 2007). Um dem Abbau im zytosolischen Proteasom zugeführt zu werden, muss das abnorme Protein allerdings zunächst das ER verlassen, was – wie oben beschrieben – durch seine Konformationsänderung behindert wird. Möglicherweise entgeht so ein Teil des mutierten AAT-Proteins dem proteasomalen Abbau.

Die hier vorliegende Untersuchung zeigt, dass sowohl Ausmaß als auch Form der AAT-Ablagerungen durch den Kofaktor Alkohol beeinflusst werden: Die doppelt belasteten PiZ-positiven Alkoholiker weisen statistisch signifikant ausgeprägtere und auch größere, globuläre Ablagerungen auf als die nichtalkoholbelasteten PiZ-positiven Patienten. Eine mögliche Erklärung für dieses Phänomen ist, dass es im Rahmen eines Alkoholabusus in der Leberzelle vermehrt zu oxidativem Stress kommt, welcher u.a. den Ubiquitin-Proteasom-Komplex in seiner proteolytischen Funktion behindert (Bardag-Gorce et al., 2000). Die Folge ist eine Akkumulation von zum Abbau vorgesehen Proteinen, wie z.B. dem pathologischen alpha1-Antitrypsin. Ein weiterer Mechanismus zur Entsorgung fehlgefalteter AAT-Moleküle ist die lysosomale Autophagie (Kamimoto et al., 2006). Ähnlich dem Proteasom, wird im Rahmen einer alkoholtoxischen Leberschädigung allerdings auch die Autophagie gestört (Donohue, 2009). Die Hemmung dieses Entsorgungsweges stellt somit eine weitere mögliche Erklärung für die stärkeren AAT-Ablagerungen bei alkoholkranken alpha1-Antitrypsinmangelpatienten dar. Schließlich könnte die Aktivierung von Entzündungsmediatoren wie Il-6, welche die hepatische AAT-Synthese regulieren, die Hepatozyten zu verstärkter AAT-Bildung anregen. Damit könnten proinflammatorische Prozesse im Rahmen einer vermehrten Alkoholbelastung, insbesondere die alkoholische Steatohepatitis, die PiZ-Synthese und -retention verstärken.

In der Gruppe der PiZ-positiven Nichtalkoholiker finden wir eine positive Korrelation zwischen dem Ausmaß der PiZ-Ablagerungen und der Intensität der lymphozytären Infiltration. Dieser Befund ist dadurch begründet, dass hepatische PiZ-Ablagerungen Leberzellschädigungen verursachen und damit entzündliche Reaktionen nach sich ziehen (Zhou und Fischer, 2000). Andererseits können entzündliche Prozesse intra- oder

extrahepatischer Genese zu einer gesteigerten AAT-Synthese und damit zu ausgeprägteren PiZ-Ablagerungen führen (Rudnick und Perlmutter, 2005). Möglicherweise bewirkt also die zunächst durch PiZ-Moleküle angestoßene Entzündungsreaktion eine sekundäre Verstärkung der Ablagerungen.

4.2.4 Mallory-Denk-Hyalin

Mallory-Denk-Bodies sind ein klassisches, wenngleich kein spezifisches Zeichen der alkoholtoxischen Leberschädigung. Diese lichtmikroskopisch eosinophil erscheinenden polyubiquitinierten Keratinpolypeptidaggregate verknüpft mit p62 sind Ausdruck eines gestörten hepatozellulären Proteinstoffwechsels. Kürzlich konnte gezeigt werden, dass die Inhibition des Proteasoms die Bildung von Mallory-Denk-Bodies zur Folge hat, wohingegen die Aktivierung der Autophagie einen wirksamen Mechanismus zur Beseitigung derselben darstellt (Harada et al., 2008). Da, wie oben beschrieben, Proteasomaktivität und Autophagie unter Alkoholeinfluss reduziert sind, ist die Formation von Mallory-Denk-Bodies die logische Konsequenz.

Beim Vergleich der PiZ-positiven Alkoholiker (C2-PiZ) mit den PiZ-negativen Alkoholikern (C2), weist die doppelt belastete Gruppe C2-PiZ gering stärkere Mallory-Denk-Hyalin Ablagerungen auf. Statistisch signifikante Unterschiede bestehen zwischen den beiden Gruppen nicht. Die tendenziell stärkeren Ablagerungen der Gruppe C2-PiZ kommen möglicherweise dadurch zustande, dass die hier vorliegende pathologische AAT-Retention die Abbauege Proteasom und Autophagie zusätzlich beansprucht. Beide, infolge des Alkoholeinflusses ohnehin funktionsgeminderten Systeme versuchen sowohl Mallory-Denk-Bodies als auch AAT-Ablagerungen zu eliminieren, werden jedoch durch die Doppelbelastung Alkohol und PiZ-Allel überfordert.

In unseren Ergebnissen fällt eine positive Korrelation von Mallory-Denk-Hyalin Ablagerungen und periportal bzw. zentrilobulärer Verfaserung auf. Zytokeratinen, als zentralem Bestandteil der Mallory-Denk-Bodies, wird eine zellprotektive Funktion nachgesagt. Untersuchungen von Zatloukal et al. (2000) zeigen, dass Hepatozyten auf verschiedene zelluläre Schädigungen mit einer vermehrten Zytokeratinsynthese reagieren, im Sinne einer Abwehrreaktion. Die Bildung von Mallory-Denk-Bodies kann daher als morphologisches Korrelat dieses Abwehrversuchs der Leberzelle interpretiert werden. Eine fehlende oder verminderte Zytokeratinexpression wird mit einer erhöhten Empfindlichkeit der Leber gegenüber toxischen Einflüssen assoziiert und soll möglicherweise auch zur Entstehung von Zirrhosen prädisponieren (Ku et al., 1997). Dieses Zusammenspiel von Leberschädigung

und gesteigerter Keratinsynthese könnte zur Erklärung der positiven Korrelation von Mallory-Denk-Hyalin und Parenchymverfaserung herangezogen werden.

4.2.5 Transaminasen

Eine bedeutsame Erhöhung der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) als Indikatoren einer Integritätsschädigung der Leberzelle liegt in den beiden einfach belasteten Gruppen nicht vor. Die GOT-Werte der doppelt belasteten PiZ-positiven Alkoholiker sind dagegen pathologisch erhöht und unterscheiden sich statistisch signifikant von den Vergleichsgruppen. Marginal erhöhte Transaminasen finden sich häufig im Rahmen eines Alkoholabusus. Hierbei kommt es in der Regel zu einem stärkeren Anstieg der GOT, da diese auch aus extrahepatischen Geweben freigesetzt wird (Kuntz und Kuntz, 2006). Bei alpha1-Antitrypsinmangel scheint die AAT-Retention im ER zu einer strukturellen und auch funktionellen Schädigung von Mitochondrien zu führen (Perlmutter, 2002). Da die GOT u.a. in den Mitochondrien lokalisiert ist, könnte eine Schädigung dieser Zellorganellen zu erhöhten Enzymwerten führen. In unserer Untersuchung zeigt sich ein relevanter Anstieg der GOT allerdings erst unter dem Zusammentreffen der beiden pathogenen Faktoren Alkohol und PiZ-Allel.

4.2.6 Quick-Wert und Cholinesterase

Quick-Wert und Cholinesterase sind wichtige Parameter zur Beurteilung der Synthesekapazität der Leber. Die hier vorliegende Untersuchung zeigt, dass die Quick-Werte der PiZ-positiven Alkoholiker statistisch signifikant niedriger sind als die der einzeln belasteten Patienten (Gruppe PiZ und Gruppe C2). Das Vorliegen des heterozygoten PiZ-Allels alleine scheint dagegen keinen Einfluss auf den Quick-Wert zu haben.

Auch die Werte der Cholinesterase (CHE) sind insbesondere bei den PiZ-positiven Alkoholikern pathologisch verändert: Die CHE ist unter der Doppelbelastung tendenziell stärker erniedrigt als bei den „reinen“ Alkoholikern.

Die alkoholtoxische Leberschädigung führt zu einer Störung der Proteinsynthese auf der Ebene der Translation (Lang et al., 2000), sodass sich bei Alkoholikern erniedrigte Quick- und CHE-Werte finden lassen können. Bei alpha1-Antitrypsinmangelpatienten löst die Akkumulation des mutierten AAT-Moleküls eine zelluläre Stressreaktion aus, die – nach Teckman et al., 1996 – direkt hepatotoxisch wirkt. Denkbar ist, dass also auch die AAT-Retention die Proteinsynthese in der Leber negativ beeinträchtigt und so eine alkoholisch bedingte Störung aggraviert.

In der vorliegenden Untersuchung ist bei den männlichen PiZ-positiven Nichtalkoholikern die Erniedrigung des Quick-Wertes negativ korreliert mit dem Ausmaß der PiZ-Ablagerungen. Bei unklar verminderten Quick-Werten sollte daher an das Vorliegen eines alpha-Antitrypsinmangels gedacht werden.

4.2.7 Alkalische Phosphatase, Bilirubin und γ -Glutamyl-Transferase

Die cholestaseanzeigenden Parameter alkalische Phosphatase (AP) und γ -Glutamyl-Transferase (γ -GT) sowie das Bilirubin können im Rahmen einer alkoholtoxischen Leberschädigung ansteigen. Die γ -GT gilt hierbei als der empfindlichste Indikator. Pathologisch erhöhte γ -GT-Werte sind allerdings nicht alkohol-spezifisch, sondern können auch durch eine Vielzahl anderer hepatobiliärer sowie extrahepatischer Erkrankungen verursacht werden. Eine alkohol-induzierte Cholestase führt sowohl zu einer vermehrten Neusynthese der γ -GT als auch zu einer Ablösung des Enzyms von der Zellmembran. Diese Effekte erklären die pathologisch erhöhten γ -GT-Werte bei Alkoholabusus (Kuntz und Kuntz, 2006).

In unserer Untersuchung weisen, wie zu erwarten, beide Alkoholgruppen höhere γ -GT-Werte auf als die nichtalkoholbelastete Gruppe PiZ. Es findet sich jedoch kein Hinweis dafür, dass das Vorliegen eines AAT-Mangels den alkohol-induzierten γ -GT-Anstieg verstärkt. Ähnliches gilt für die Ergebnisse der AP: Die alkoholbelasteten Fälle weisen statistisch signifikant höhere AP-Spiegel auf als die Gruppe PiZ; ein aggravierender Einfluss des PiZ-Allels auf den AP-Anstieg unter alkoholtoxischer Leberschädigung scheint jedoch nicht zu bestehen. Hieraus lässt sich schlussfolgern, dass die Serumwerte von γ -GT und AP in erster Linie durch den Faktor Alkohol bestimmt werden und der Einfluss des PiZ-Allels hier vernachlässigt werden kann. Anders sehen die Ergebnisse beim Vergleich des Gesamt-Bilirubins aus: Hier führt die zusätzliche Belastung von Alkoholikern mit dem PiZ-Allel zu einer signifikant stärkeren Erhöhung des Bilirubins als der Faktor Alkohol alleine. Welche Mechanismen dieses Phänomen erklären könnten, bleibt hier offen.

4.2.8 Zygotiestatus

Da die Häufigkeit der homozygoten PiZZ-Träger weniger als 1% aller AAT-Mangel Patienten beträgt, hätten wir a priori den Einfluss des Zygotiestatus in der vorliegenden Untersuchung vernachlässigen und auf eine Genotypuntersuchung verzichten können. Dennoch prüften wir in allen Fällen, in denen ausreichendes Gewebematerial zur Verfügung stand – dies galt insbesondere für die mit AAT-Ablagerungen überladenen Explantatlebern – molekularpathologisch den Zygotiestatus und fanden in allen Fällen unseres Kollektivs eine PiZ-Heterozygotie.

4.2.9 Abschließende Bewertung

Unsere Untersuchungen belegen, dass der heterozygote PiZ-Status der AAT-Mutation eine alkoholische Lebererkrankung signifikant zu aggravieren vermag und umgekehrt eine alkoholische Lebererkrankung die Penetranz der heterozygoten PiZ-Mutation soweit verstärken kann, dass Leberveränderungen wie bei PiZZ-Homozygoten auftreten können. Dieser sich wechselseitig verstärkende Zusammenhang ist von klinischer Relevanz, da die alkoholische Leberschädigung zu den häufigsten Lebererkrankungen überhaupt gehört. Die Frequenz des heterozygoten PiZ-Status in Nord-, Mittel- und Osteuropa ist hoch – etwa 2,8% der deutschen Bevölkerung sind heterozygote PiZ-Gen-Träger. Damit ist die Wahrscheinlichkeit einer Koinzidenz beider Erkrankungen nicht gering. Es bleibt zukünftigen Studien vorbehalten zu klären, ob die nicht seltene, aber selten diagnostizierte, heterozygote PiZ-Mutation auch die Progression anderer chronischer Lebererkrankungen (z.B. NASH) verstärkt.

5 Zusammenfassung

Der alpha1-Antitrypsinmangel Typ PiZ kann bei homozygotem Erbgang zu chronischer Leberentzündung, Zirrhose und zum hepatozellulären Karzinom führen. Diese Arbeit befasst sich zum einen mit der Frage, ob die AAT-Mutation Typ PiZ im heterozygoten Erbgang mit einem erhöhten Auftreten auch extrahepatischer Malignome einhergeht („PiZ – Malignome“), zum anderen wird untersucht, inwieweit dieser Gendefekt eine alkoholtoxische Leberschädigung aggraviert („PiZ – Alkohol“).

Das Patientenkollektiv stammt aus den konsekutiven Leberbiopsien und -resektaten des Instituts für Pathologie der Universität Bonn aus den Jahren 1995 bis 2007 (6886 Fälle). Zur Identifizierung der PiZ-positiven Patienten werden alle 6886 Leberproben immunhistochemisch auf das Vorliegen des alpha1-Antitrypsin-Proteins vom Typ PiZ hin untersucht. Hierbei fanden sich 254 PiZ-positive Fälle. Von diesen werden nach definierten Kriterien 157 (Fragestellung „PiZ – Malignome“) bzw. zweimal 42 Patienten (Fragestellung „PiZ – Alkohol“) ausgewählt und in die weitere Auswertung aufgenommen.

„PiZ – Malignome“: 157 PiZ-positive Patienten und 157 PiZ-negative Vergleichspartner gleichen Geschlechts und gleichen Alters werden auf ein erhöhtes extrahepatisches Malignomrisiko der AAT-Mangel Patienten hin untersucht. Es findet sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($\chi^2 = 0,129$; $p = 0,72$). Demnach stellt der heterozygote PiZ-Status keinen Risikofaktor für die Erkrankung an einem extrahepatischen Malignom dar.

„PiZ – Alkohol“: Um die Auswirkungen der PiZ-Mutation auf einen alkoholischen Leberschaden zu untersuchen, werden drei Vergleichsgruppen mit je 42 Patienten gebildet: PiZ-positive Alkoholiker (Gruppe C2-PiZ), PiZ-positive Nichtalkoholiker (Gruppe PiZ) und PiZ-negative Alkoholiker (Gruppe C2). Letztere werden aus den PiZ-negativen Leberfällen des Untersuchungszeitraums ausgewählt.

Bei der Gegenüberstellung von PiZ-negativen Alkoholikern mit PiZ-positiven Nichtalkoholikern fallen histologische sowie laborchemische Befunde in der alkoholbelasteten Gruppe deutlich schlechter aus. Die Noxe Alkohol ist hier eindeutig der verlaufsbestimmende Parameter. Dennoch bewirkt auch das alleinige Vorliegen eines AAT-Mangels Typ PiZ pathologische Leberveränderungen: In der Gruppe der PiZ-positiven Nichtalkoholiker finden sich in vier Fällen schwere Fibrosen (Scorewert 4 im modifizierten Knodell Histological Activity Index), sowie eine komplette Zirrhose (Scorewert 5 im modifizierten Knodell Histological Activity Index). Fünf Fälle weisen eine mäßige

lymphozytäre Entzündung auf. Die in der Gruppe PiZ am häufigsten pathologisch erhöhten Enzyme sind die alkalische Phosphatase (20/42 Patienten) und die γ -Glutamyl-Transferase (22/42 Patienten).

Die Gegenüberstellung PiZ-negativer Alkoholiker und PiZ-positiver Alkoholiker zeigt, dass das Vorliegen eines AAT-Mangels Typ PiZ eine alkoholtoxische Leberschädigung signifikant verstärken kann: Das Ausmaß der periportalen Leberfibrose ($p = 0,006$), der Bilirubinstase ($p = 0,048$) sowie der lymphozytären Infiltration ($p = 0,007$) fallen in der Gruppe der PiZ-positiven Alkoholiker statistisch signifikant stärker aus als in der Gruppe der PiZ-negativen Alkoholiker. Auch die Laborbefunde für den Quick-Wert ($p = 0,038$), das Bilirubin ($p = 0,011$) und die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase ($p = 0,04$) sind in der doppeltbelasteten Gruppe C2-PiZ signifikant stärker pathologisch verändert als in der Gruppe C2.

Der heterozygote PiZ-Status ist mit einer Prävalenz von knapp 3% in der deutschen Bevölkerung keine Seltenheit. Die Möglichkeit eines Zusammentreffens einer heterozygoten PiZ-Mutation und einer Alkoholbelastung darf daher nicht unterschätzt werden. Angesichts der Tatsache, dass der heterozygote PiZ-Status eine alkoholische Leberschädigung signifikant zu aggravieren vermag, sollten AAT-Mangelpatienten mit gleichzeitigem Alkoholabusus auf ihr erhöhtes Risiko hingewiesen werden.

6 Anhang

K-Nr.	Jahr	Alter	m1 w2	CA	CA-Erläuterung
12769	95	44	2	1	Leiomyosarkom des Dünndarms, Leberfiliae
11903	95	45	2	1	superfiziell spreitendes malignes Melanom (pT2, M0, N0)
16856	95	54	2	1	Rektumkarzinom
23807	95	70	1	1	hochmalignes NHL (Stadium IIA)
19041	95	71	2	1	Cholangiozelluläres Karzinom
13934	95	76	1	1	Rektumkarzinom mit Leberfiliae
16445	96	33	1	1	Rektumkarzinom mit Leberfiliae
16475	96	50	1	1	Z.n. Hautsarkom
4337	96	56	2	1	Cholangiozelluläres Karzinom
9438	96	58	2	1	Urothel-CA (pT1, G3)
18595	96	59	1	1	HCC
13245	96	60	1	1	Magenkarzinom
22398	96	64	1	1	M. Hodgkin (Stadium III)
1260	97	40	2	1	Leiomyosarkom (M.psoas links)
12562	97	46	2	1	Ovarial-CA (ED 1997)
18209	97	54	2	1	Paragangliom mit Leberfiliae
11534	97	56	1	1	Liposarkom der Schulter
3332	97	56	2	1	Endometrium-CA
12647	97	57	2	1	HCC
8691	97	58	1	1	niedrigmalignes NHL mit Leberfiliae
4214	97	58	1	1	HCC
21874	97	61	1	1	HCC
4171	97	73	2	1	Harnblasen-CA
20457	97	76	1	1	Sigma-CA mit Lungenfiliae (ED 1994)
15561	98	52	2	1	Zervixkarzinom
8607	98	54	1	1	Ösophagus-CA
8584	98	55	2	1	Z.n. Karzinom der Orbita (retroorbital)
22927	98	58	1	1	M. Hodgkin
16192	98	70	1	1	HCC
15833	98	71	2	1	Pankreas-CA
18536	98	75	2	1	Collum-CA, Rektum-CA mit Leberfiliae
612	98	78	1	1	HCC
21193	98	80	2	1	Mamma-CA (ED 1994)
15320	99	35	1	1	Ösophagus-CA mit Leberfiliae
10030	99	56	2	1	HCC
8979	99	61	2	1	Gallenblasen-CA (pT2, pM1), Leberfiliae

**Anhang 1: Malignome der PiZ-positiven Patienten (Fragestellung „PiZ – Malignome)
(Teil 1)**

K-Nr.	Jahr	Alter	m1 w2	CA	CA-Erläuterung
23825	99	61	2	1	Siegelringzell-CA des Magens
7126	99	63	1	1	Pankreas-CA mit Leberfiliae
23980	99	71	1	1	HCC
21190	99	87	2	1	Gallenblasen-CA
8487	2000	58	1	1	HCC
4933	2000	70	1	1	Pankreas-CA mit Leberfiliae
13339	2000	73	2	1	HCC, Kardia-CA mit Leberfiliae
8589	2000	75	1	1	Ösophagus-CA (Barrett)
15712	2001	65	1	1	Pankreas-CA mit Leberfiliae
13225	2001	71	2	1	Cholangiozelluläres Karzinom
7303	2002	65	2	1	Uterus-CA (ED 1983)
15100	2002	67	1	1	HCC, Z.n. Omentummetastasen
20899	2002	39	1	1	HCC (pT2, G2, R0)
21339	2002	65	2	1	1972 Hysterektomie bei CA, 2002 HCC (niedrig differenziert)
22105	2002	72	2	1	Ductus-cysticus-CA (pT2, pN0, R0, M0)
24566	2002	72	1	1	Adeno-CA des Magens (pT2, N2, L1, M1) ED 2002
13384	2003	45	1	1	Adeno-CA des Sigmas (pT3, pN0, M0, R0, G2-3)
18191	2003	69	1	1	Pankreaskopf-CA (pT3, N1, G3, R1)
21367	2003	39	2	1	Ovarial-CA FIGO 3c, Mamma-CA bds. 2003
6289	2004	62	2	1	HCC (pT1, R0, G2)
13078	2004	51	1	1	intraabdominelle Metastase bei unbekanntem Primarius
14410	2004	50	1	1	malignes Melanom (ED 2002)
31628	2004	36	1	1	HCC (pT1, R0, G2)
31771	2004	52	1	1	gering differenziertes Magen-CA, intestin.Typ (pT2, R0, L1, pN1)
13601	2004	69	1	1	Rektum- und Pankreaskarzinom
10301	2005	72	1	1	Adeno-CA des Sigmas (pT3, pN2, pM1) ED 2005
23538	2005	48	2	1	Mamma-CA (ED 2000)
3475	2006	77	2	1	Pankreas-CA (ED 2005)
5570	2006	65	1	1	HCC (pT1, pN0, Mx, G2) u. CCC
28409	2006	72	2	1	Mamma-CA (pT2, pN0, M0, R0)
865	2007	69	2	1	Gallenblasen-CA (pT3, pNx, R1, M1, G3)
1757	2007	84	1	1	Pankreas-CA
2620	2007	69	1	1	HCC, Z.n. Larynx-CA vor 10 Jahren
9782	2007	81	1	1	Omentum-CA, Lebermetastasen, maligner Aszites
14328	2007	63	1	1	HCC
16233	2007	67	1	1	HCC (pT3,R0,G2 mittelgradig differenziert)
28141	2007	47	2	1	HCC
33177	2007	66	1	1	Prostata-CA (pT2c, R0, G2a; Gleason 6); Malignom der Kopfhaut

Anhang 1: Malignome der PiZ-positiven Patienten (Fragestellung „PiZ – Malignome) (Teil2)

K-Nr.	Jahr	Alter	m1 w2	CA	CA-Erläuterung
8832	2001	61	1	1	NHL, Urothelkarzinom, Lebermetastase
6834	2001	70	1	1	Leberzellkarzinom
11990	2001	72	1	1	Hodgkin Lymphom, Karzinom in der Leber
24654	2001	87	2	1	Rektumkarzinom
19791	2002	72	1	1	Barrett-CA
18741	2002	82	1	1	Magen-CA
19454	2002	48	1	1	Rektum-CA (ED 2002)
12239	2002	72	2	1	Uterus-CA
20941	2002	73	2	1	Mamma-CA
4549	2002	48	1	1	HCC
25933	2002	47	2	1	Sigmakarzinom, Lebermetastasen
14909	2002	76	1	1	Pankreaskarzinom, Lebermetastasen
13725	2002	85	1	1	Adenokarzinom des distalen Ösophagus (pT2, pR0, pN1, G3)
21760	2003	40	1	1	C-Zell-CA der Schilddrüse
5036	2003	68	1	1	Barrett-CA (pT2b, pN0, R0, G2) ED 2006
4691	2003	73	1	1	HCC (ED 2003)
44	2003	62	2	1	Pankreaskopf-CA (pT2, pN0)
7430	2003	69	1	1	Colon-CA (ED 1999)
5979	2003	81	2	1	Adenokarzinom des Coecums (pT3, pN1, teils G2/teils G3)
21432	2003	65	2	1	Nierenzellkarzinom ED '96, Mammakarzinom mit Lebermetastasen
21629	2003	58	1	1	Kardiakarzinom, Lebermetastasen
15721	2003	68	1	1	Kolonkarzinom (pT3, pN0, pM1, R0), Lebermetastasen
8444	2003	73	2	1	Pankreaskopfkarzinom
10332	2003	79	1	1	Pankreaskopfkarzinom, Prostatakarzinom
17460	2003	65	1	1	Z.n. Rektumkarzinom mit Amputation 1999
16016	2004	69	1	1	Cholangiozelluläres Karzinom
17871	2004	63	2	1	hormonaktives Dünndarmkarzinoid
6164	2004	67	1	1	HCC (ED 2004)
27336	2004	64	2	1	Colon-CA (pT3, R0, L1, pN1)
29075	2004	50	1	1	multiple Lebermetastasen bei Rektumkarzinom (pT3, N2, M0)
10807	2004	57	1	1	Leberzellkarzinom (pT1, R0, G2)
11648	2004	59	1	1	Rektumkarzinom (T4, N2, M0, R1), B-Zell-Lymphom
1201	2004	59	2	1	Z.n. Mamma-Ca vor 20 J., Lebermetastase eines Lungenkarzinoms
10015	2004	64	1	1	Rektumkarzinom
20093	2004	69	1	1	klarzelliges Nierenzellkarzinom, Adenokarzinom der Lunge
7509	2004	52	1	1	hepatozelluläres Karzinom bei chronischer Hepatitis B u. D
24090	2004	57	2	1	Pankreaskopfkarzinom, Lebermetastasen
21108	2004	58	1	1	gering differenziertes Magenkarzinom (pT2b, N2, M1)

Anhang 2: Malignome der PiZ-negativen Patienten (Fragestellung „PiZ – Malignome)

(Teil 1)

K-Nr.	Jahr	Alter	m1 w2	CA	CA-Erläuterung
16667	2004	58	1	1	Analkanalkarzinom ED 2004 (pT2, N0, M0)
7316	2004	73	2	1	Rektumkarzinom ED 1996 (pT3, pN0, G2), Lebermetastasen
6518	2004	74	1	1	Leberzellkarzinom
13322	2004	54	1	1	Sigmakarzinom, Lebermetastase
20339	2004	70	1	1	Harnblasenkarzinom (ED 2004), Leber- und Knochenmetastasen
671	2004	71	2	1	Rektumkarzinom, Lebermetastasen
4058	2004	78	1	1	Pankreaskopfkarzinom
10516	2004	55	2	1	Kolonkarzinom, Lebermetastasierung
10923	2004	61	2	1	Pankreaskopfkarzinom, Peritonealkarzinose
18805	2004	62	1	1	multifokales HCC, Z.n. Prostatakarzinom
6008	2004	63	1	1	metastasiertes Karzinoid mit Absiedlungen in Leber u. Lunge, ED '04
29755	2004	75	1	1	multifokales HCC
4199	2004	71	2	1	Immunozytom, HCC (pT3, R0, G3)
918	2005	72	1	1	Pankreaskopf-CA
310	2005	60	1	1	Rektumkarzinom ED '04, Lebermetastasen, Z.n. Harnblasenkarzinom
3859	2005	75	2	1	Ovarialkarzinom (FIGO II)
26355	2006	64	1	1	HCC (ED 1990)
22258	2006	65	1	1	Rektum-CA (ED 2005)
11512	2006	67	1	1	HCC
29370	2006	73	2	1	Mamma-CA, neuroendokrines CA (Pankreaskopf)
24141	2006	65	1	1	Colon-CA (Sigma)
24268	2006	80	1	1	Barrett-CA (pT3, R0, pN1, G3)
18646	2007	86	1	1	Bronchial-CA
5228	2007	69	1	1	HCC
19016	2007	63	1	1	HCC ED 2001 (pT1, G1), multiple Rezidive
8851	2007	61	1	1	Z.n. Adeno-CA des Gaumens (ED 2003)

**Anhang 2: Malignome der PiZ-negativen Patienten (Fragestellung „PiZ – Malignome)
(Teil 2)**

Gruppe	K-Nr.	Jahr	m1 w2	Alter	Angaben zum Alkoholabusus
PiZ	19343	95	1	60	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	7418	95	1	52	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	23807	95	1	70	"selten"
PiZ	16445	96	1	33	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	11902	96	1	36	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	21293	96	1	57	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	13245	96	1	60	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	9488	96	1	60	selten ein Glas Bier
PiZ	22398	96	1	64	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	22034	96	1	69	seit einem Jahr nichts, vorher gelegentlich Bier
PiZ	14684	97	1	31	früher mäßig, jetzt nichts
PiZ	19196	97	1	39	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	1665	97	1	55	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	20457	97	1	76	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	22927	98	1	58	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	7272	99	1	40	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	12797	99	1	60	selten ein Glas Wein
PiZ	22297	1998	1	60	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	8589	2000	1	75	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	23117	2001	1	31	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	4316	2003	1	49	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	26521	2003	1	62	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	14410	2004	1	50	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	31771	2004	1	52	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	8502	2004	1	44	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	13601	2004	1	69	"kaum"
PiZ	10301	2005	1	72	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	15549	2005	1	42	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	16233	2007	1	67	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	8395	95	2	46	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	9438	96	2	58	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	14938	97	2	29	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	1260	97	2	40	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	18209	97	2	54	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	12647	97	2	57	1 Glas Rotwein ab und zu
PiZ	9980	97	2	58	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	8584	98	2	55	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	18536	98	2	75	"gelegentlich"
PiZ	19042	99	2	49	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	11605	2003	2	46	"selten"
PiZ	670	2004	2	82	anamnestisch kein Alkoholabusus
PiZ	3475	2006	2	77	anamnestisch kein Alkoholabusus

Anhang 3: Alkoholangaben der Gruppe PiZ (Fragestellung „PiZ – Alkohol“)

Gruppe	K-Nr.	Jahr	m1 w2	Alter	Angaben zum Alkoholabusus
C2-PiZ	27332	2003	1	56	äthyltoxische Leberzirrhose
C2-PiZ	3780	2007	1	50	äthyltoxische Leberzirrhose, abstinent seit 12/05
C2-PiZ	3834	97	1	74	2 Flaschen Kölsch/Tag
C2-PiZ	19742	2003	1	32	äthyltoxische Leberzirrhose
C2-PiZ	12549	2000	1	39	seit 3 Monaten abstinent, vorher 5 l Bier/Tag
C2-PiZ	22543	97	1	56	Abusus (nicht näher bezeichnet)
C2-PiZ	4323	95	1	57	seit 1,5 Jahren regelmäßig Bier
C2-PiZ	14581	95	1	59	2 Gläser Wodka/Tag
C2-PiZ	21352	99	1	62	Abusus (nicht näher bezeichnet)
C2-PiZ	25614	2002	1	65	regelmäßig größere Mengen
C2-PiZ	3112	98	1	34	Wein- u. Bier-Abusus
C2-PiZ	8580	98	1	40	6 Flaschen Bier/Tag seit zwei Jahren
C2-PiZ	12488	2003	1	53	über Jahre Abusus (Bier, selten Schnaps)
C2-PiZ	612	98	1	78	1-2 Flaschen Wein, Korn
C2-PiZ	11534	97	1	56	1 Flasche Wein/Tag
C2-PiZ	6828	96	1	43	Bier u. Schnaps täglich
C2-PiZ	858	95	1	59	seit Jahren >10 Flaschen Bier u. Weinbrand
C2-PiZ	36823	2008	1	56	inkomplette Zirrhose alkoholtoxischer Genese
C2-PiZ	22759	2002	1	77	bis vor 1/2 Jahr 1 Flasche Wein/Tag
C2-PiZ	17448	2004	1	31	Abusus (Bier)
C2-PiZ	23238	2002	1	49	Abusus (nicht näher bezeichnet)
C2-PiZ	4876	2006	1	64	äthyltoxische Leberzirrhose
C2-PiZ	21003	2001	1	55	seit 2 Jahren kein Alkohol mehr, aktuell fraglicher Abusus
C2-PiZ	10113	2008	1	53	äthyltoxische Zirrhose (ED '99)
C2-PiZ	1772	97	1	47	4-5 Flaschen Bier/Tag
C2-PiZ	12369	96	1	69	jahrelang bis 20 Flaschen Bier/Tag
C2-PiZ	24566	2002	1	72	2-3 Flaschen Bier/Tag
C2-PiZ	5207	2009	1	43	Patient negiert aktuellen Abusus; früher "viel"
C2-PiZ	5570	2006	1	65	äthyltoxische Leberzirrhose
C2-PiZ	28141	2007	2	47	äthyltoxische Leberzirrhose
C2-PiZ	6303	98	2	65	Abusus (nicht näher bezeichnet)
C2-PiZ	5543	2009	2	30	"kaum" (Leberzirrhose, hepatische Enzephalopathie)
C2-PiZ	12562	97	2	46	3-4 l Bier/Tag
C2-PiZ	3332	97	2	56	Abusus (nicht näher bezeichnet)
C2-PiZ	5162	95	2	63	Abusus Bier/Sherry
C2-PiZ	30383	2004	2	63	"ab und zu etwas mehr" (Leberzirrhose)
C2-PiZ	9535	96	2	59	Abusus Bier/Wein
C2-PiZ	15086	99	2	70	hochgradiger V.a. Abusus, Patientin verneint (Leberzirrhose)
C2-PiZ	1402	99	2	49	Abusus (nicht näher bezeichnet)
C2-PiZ	24604	2003	2	46	"schwerer Abusus" über Jahre
C2-PiZ	3604	97	2	73	1/4 l Wein am Tag
C2-PiZ	18717	2005	2	79	Bier und Schnaps

Anhang 4: Alkoholangaben der Gruppe C2-PiZ (Fragestellung „PiZ – Alkohol“)

Gruppe	K-Nr.	Jahr	m1	Alter	Angaben zum Alkoholabusus
			w2		
C2	22168	2000	1	56	jahrelang, phasenweise viel
C2	3789	2003	1	51	seit 10 Jahren Alkoholiker (4-5 Flaschen Bier/Tag)
C2	23911	99	1	74	seit 30 Jahren Bier
C2	9933	98	1	31	Bier und Whiskey
C2	4055	97	1	39	bis vor 4 Wochen 4-5 Flaschen Bier/Tag
C2	21881	96	1	56	bis vor 4 Monaten 1 Flasche Bier/Wein regelmäßig
C2	13084	96	1	58	jahrelang 1/2 Flasche Wein/Tag
C2	14058	97	1	59	3 Flaschen Bier und gelegentlich Schnaps
C2	4294	97	1	61	seit 22 Jahren Abusus
C2	23628	99	1	62	6-10 Flaschen Bier/Tag
C2	15942	96	1	34	regelmäßig Bier
C2	9809	96	1	40	chronischer Abusus (nicht näher bezeichnet)
C2	13812	96	1	52	5 Jahre lang 1 Flasche Cognac/Tag
C2	21630	2000	1	77	häufig Wein, berufsbedingt (Winzer)
C2	9378	95	1	57	jahrelang 3 Flaschen Bier/Tag, Schnaps gelegentlich
C2	19352	97	1	41	2-3 Gläser Wein/Tag
C2	18072	97	1	59	seit 30 Jahren 1 Flasche Korn und Bier täglich
C2	16510	96	1	56	3-4 Gläser Bier/Tag und Schnaps
C2	6365	97	1	77	über Jahre Abusus (nicht näher bezeichnet)
C2	23309	95	1	31	regelmäßig Wein oder Sekt
C2	7191	2004	1	49	1991-2000 "trocken", dann Rückfall
C2	14681	2000	1	63	Abusus (nicht näher bezeichnet)
C2	23683	98	1	55	über Jahre 3 Dosen Bier/Tag
C2	10094	95	1	52	2-3 Flaschen Bier/Tag, über 34 Jahre
C2	11139	97	1	43	seit 25 Jahren 10 Flaschen Bier/Tag
C2	6962	2000	1	70	4 Flaschen Bier/Tag
C2	13480	97	1	73	Bier und Wein
C2	10406	98	1	43	mind. 2-3 Flaschen Bier/Tag
C2	25889	2004	1	65	äthyltoxische Zirrhose
C2	20305	98	2	47	bis 1992 regelmäßig Bier, Sekt, Wein
C2	19232	95	2	65	bekannter Abusus (Wein)
C2	191	99	2	35	äthyltox. Zirrhose; seit '98 abstinent, davor jahrelang "Spiegeltrinkerin"
C2	23116	95	2	46	2 Gläser Sekt u. 2 Gläser Cognac am Tag
C2	15549	95	2	56	seit 10 Jahren 1/2 Flasche Weinbrand, Bier
C2	15684	98	2	59	2-3 Flaschen Bier/Tag
C2	10168	99	2	63	Abusus (nicht näher bezeichnet)
C2	9252	97	2	59	Abusus Bier/Sekt
C2	10831	2000	2	70	1 Flasche Wein/Tag
C2	14936	96	2	49	2 Gläser Rotwein, 2 Gläser Bier regelmäßig
C2	13274	2000	2	47	seit 6 Jahren Abusus, 2 Gläser Wein/Tag
C2	16096	99	2	74	äthyltoxische Leberzirrhose
C2	17048	2001	2	78	dekompensierte äthyltoxische Leberzirrhose

Anhang 5: Alkoholangaben der Gruppe C2 (Fragestellung „PiZ – Alkohol“)

7 Literaturverzeichnis

Albano E, Clot P, Morimoto M, Tomasi A, Ingelman-Sundberg M, French SW. Role of cytochrome P4502E1-dependent formation of hydroxyethyl free radical in the development of liver damage in rats intragastrically fed with ethanol. *Hepatology* 1996; 23: 155-163

Alpha-1 Association, 2009: How is alpha-1 diagnosed?
<http://www.alpha1.org/whatisalpha1/howdiagnosed.php> (21.03.2009)

Bardag-Gorce F, French BA, Lue YH, Nguyen V, Wan YJ, French SW. Mallory bodies formed in proteasome-depleted hepatocytes: an immunohistochemical study. *Exp Mol Pathol* 2001; 70: 7-18

Bardag-Gorce F, Yuan QX, Li J, French BA, Fang C, Ingelman-Sundberg M, French SW. The effect of ethanol-induced cytochrome p4502E1 on the inhibition of proteasome activity by alcohol. *Biochem Biophys Res Communications* 2000; 279: 23-29

Benkman HG, Hanssen HP, Ovenbeck R, Goedde HW. Distribution of alpha-1-antitrypsin and haptoglobin phenotypes in bladder cancer patients. *Hum Hered* 1987; 37: 290-293

Berman WJ, Gil J, Jennett RB, Tuma D, Sorrell MF, Rubin E. Ethanol, hepatocellular organelles, and microtubules. A morphometric study in vivo and in vitro. *Lab Invest* 1983; 48: 760-767

Billingsley GD, Walter MA, Hammond GL, Cox DW. Physical mapping of four serpin genes: alpha 1-antitrypsin, alpha 1-antichymotrypsin, corticosteroid-binding globulin, and protein C inhibitor, within a 280-kb region on chromosome 14q32.1. *Am J Hum Genet* 1993; 52: 343-353

Brantly ML, Paul LD, Miller BH, Falk RT, Wu M, Crystal RG. Clinical features and history of the destructive lung disease associated with alpha-1-antitrypsin deficiency of adults with pulmonary symptoms. *Am Rev Respir Dis* 1988; 138: 327-336

Bundesministerium für Gesundheit, 2009: Drogen- und Suchtbericht.
http://www.bmg.bund.de/cln_110/SharedDocs/Downloads/DE/Drogen-Sucht/Drogen_20und_20Sucht_20allgemein/Drogen-20und_20Suchtbericht_202009.templateId=raw,property=publicationFile.pdf/Drogen-%20und%20Suchtbericht%202009.pdf (04.05.2009)

Callea F, Massi G, De Wolf-Peeters C, Lievens C, Desmet VJ. Alpha-1-antitrypsin phenotypes in malignant lymphoma. *J Clin Pathol* 1982 ; 35: 1213-1215

Callea F, Stuyck JM, Massi G, Huyghe JD, Van Gijsegem DF, Jadoul DH, Desmet VJ. Alpha-1-antitrypsin (AAT) deposits in gall bladder adenocarcinoma and liver in partial AAT deficiency (Pi SZ phenotype). *Am J Clin Pathol* 1982; 78: 878-883

Casini A, Ricci OE, Paoletti F, Surrenti C. Immune mechanisms for hepatic fibrogenesis. T-lymphocyte-mediated stimulation of fibroblast collagen production in chronic active hepatitis. *Liver* 1985; 5: 134-141

Chang YP, Mahadeva R, Chang WS, Shukla A, Dafforn TR, Chu YH. Identification of a 4-mer peptide inhibitor that effectively blocks the polymerization of pathogenic Z alpha1-antitrypsin. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2006; 35: 540-548

Clausen PP, Lindskov J, Gad I, Kreutzfeldt M, Orholm M, Reinicke V, Larsen HR, Strom P. The diagnostic value of alpha1-antitrypsin globules in liver cells as a morphological marker of alpha1-antitrypsin deficiency. *Liver* 1984; 4: 353-359

Colombat M, Charlotte F, Ratzu V, Poynard T. Portal lymphocytic infiltrate in alcoholic liver disease. *Hum Pathol* 2002; 33: 1170-1174

Darlington GJ, Astrin KH, Muirhead SP, Desnick RJ, Smith M. Assignment of human alpha 1-antitrypsin to chromosome 14 by somatic cell hybrid analysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79: 870-873

Day CP, James OFW. Steatohepatitis: a tale of two 'hits'? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-845

De Craemer D, Pauwels M, Van den Branden C. Morphometric characteristics of human hepatocellular peroxisomes in alcoholic liver disease. *Alcoholism: Clin Exp Res* 1996; 20: 908-913

De Luca A, Gysling E, 2001: Arzneimittelinteraktionen mit Alkohol. <http://www.infomed.org/pharma-kritik/pk03a-01.html> (02.11.08)

Denk H, Stumptner C, Fuchsbichler A, Zatloukal K. Alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. Histopathologic and pathogenetic considerations. *Pathologie* 2001; 22: 388-389

Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen, 2008: Alkoholkonsum und Gesundheit. http://www.dhs.de/web/daten/Alkoholkonsum_und_Gesundheit.pdf (03.11.08)

Donohue TM Jr. Autophagy and ethanol-induced liver injury. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1178-1185

Donohue TM Jr, Tuma DJ, Sorrell MF. Acetaldehyde adducts with proteins: binding of (14C)acetaldehyde to serum albumin. *Arch Biochem Biophys* 1983; 220: 239-246

Eigenbrodt ML, McCashland TM, Dy RM, Clark J, Galati J. Heterozygous α 1-antitrypsin phenotypes in patients with end stage liver disease. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 602-607

Elliott PR, Bilton D, Lomas DA. Lung polymers in Z α 1-antitrypsin deficiency-related emphysema. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998; 18: 670-674

Eriksson S. α 1-antitrypsin deficiency and liver cirrhosis in adults. An analysis of 35 Swedish autopsied cases. *Acta Med Scand* 1987; 221: 461-467

Eriksson S, Carlson J, Velez R. Risk of cirrhosis and primary liver cancer in alpha1-antitrypsin deficiency. *N Engl J Med* 1986; 314: 736-739

Fagerhol MK. The Pi-System: Genetic variants of serum α 1-antitrypsin. *Series Haematol* 1968; 1: 153-161

Fauerholdt L, Schlichting P, Christensen E, Poulsen H, Tygstrup N, Juhl E and the Copenhagen Study Group for Liver Diseases. Conversion of micronodular cirrhosis into macronodular cirrhosis. *Hepatology* 1983; 3: 928-931

Fischer HP, Ortiz-Pallardó ME, Ko Y, Esch C, Zhou H. Chronic liver disease in heterozygous α 1-antitrypsin deficiency PiZ. *Journal of Hepatology* 2000; 33: 883-892

French SW, Mayer RJ, Bardag-Gorce F, Ingelman-Sundberg M, Rouach H, Neve E, Higashitsuji H. The Ubiquitin-Proteasome 26s Pathway in Liver Cell Protein Turnover: Effect of Ethanol and Drugs. *Alcohol Clin Exp Res* 2001; 25: 225-229

French SW. Mechanisms of alcoholic liver injury. *Can J Gastroenterol* 2000; 14: 327-332

Gaines KC, Salhany JM, Tuma DJ, Sorrell MF. Reaction of acetaldehyde with human erythrocyte membrane proteins. *FEBS Lett* 1977; 75: 115-119

Gishen P, Saunders AJ, Tobin MJ, Hutchison DC. Alpha 1-antitrypsin deficiency: the radiological features of pulmonary emphysema in subjects of Pi type Z and Pi type SZ: a survey by the British Thoracic Association. *Clin Radiol* 1982; 33: 371-377

Gouillon ZQ, Miyamoto K, Donohue TM, Wan YJ, French BA, Nagao Y, Fu P, Reitz RC, Hagbjork A, Yap C, Yuan QX, Ingelman-Sundberg M, French SW. Role of CYP2E1 in the pathogenesis of alcoholic liver disease: Modifications by cAMP and ubiquitin-proteasome pathway. *Front Biosci* 1999; 4: A16-A25

Graziadei IW, Joseph JJ, Wiesner RH, Therneau TM, Batts KP, Porayko MK. Increased risk of chronic liver failure in adults with heterozygous α 1-antitrypsin deficiency. *Hepatology* 1998; 28: 1058-1063

Groß HJ, 2008: α 1-Antitrypsinmangel. <http://www.uni-ulm.de/klinik/klinchem/a1-Antitrypsinmangel.pdf> (18.11.08)

Hall MP de la. Alcoholic liver disease. In: Burt A, Portmann B, Ferrell L, eds. *MacSween's Pathology of the Liver*. Churchill Livingstone: Elsevier, 2008: 327-367

Hammerberg G, Keren DF. Polymerase chain reaction-mediated site-directed mutagenesis detection of Z and S alpha-1-antitrypsin alleles in family members. *J Clin Lab Anal* 1996; 10: 384-388

Harada M, Hanada S, Toivola DM, Ghori N, Omary MB. Autophagy activation by rapamycin eliminates mouse Mallory-Denk bodies and blocks their proteasome inhibitor-mediated formation. *Hepatology* 2008; 47: 2026-2035

Hersh CP, Dahl M, Ly NP, Berkey CS, Nordestgaard BG, Silverman EK. Chronic obstructive pulmonary disease in alpha1-antitrypsin PiMZ heterozygotes: a meta-analysis. *Thorax* 2004; 59: 843-849

Hidvegi T, Schmidt BZ, Hale P, Perlmutter DH. Accumulation of mutant alpha1-antitrypsin Z in the ER activates caspases-4 and -12, NF β B and BAP31 but not the unfolded protein response. *J Biol Chem* 2005; 280: 39002-39015

Huang H, Campbell SC, Nelius T, Bedford DF, Veliceasa D, Bouck NP, Volpert OV. α 1-antitrypsin inhibits angiogenesis and tumor growth. *Int J Cancer* 2004; 112: 1042-1048

Huber R, Carrell RW. Implications of the three-dimensional structure of α 1-antitrypsin for structure and function of serpins. *Biochemistry* 1989; 28: 8951-8966

Hummel K. Tabellierte biostatistische Kenngrößen zur blutgruppenserologischen Vaterschaftsbegutachtung, Seite 194, 1992, Verlag Johannes Krause, Freiburg i.Br.

Ishak KG, Zimmerman HJ, Ray MB. Alcoholic liver disease: pathologic, pathogenetic and clinical aspects. *Alcohol Clin Exp Res* 1991; 15: 45-66

Israel Y, Hurwitz E, Niemelä O, Arnon R. Monoclonal and polyclonal antibodies against acetaldehyde-containing epitopes in acetaldehyde-protein adducts. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 7923-7927

Jakobovits AW, Morgan MY, Sherlock S. Hepatic siderosis in alcoholics. *Dig Dis Sci* 1979; 24: 305-310

Jennett RB, Tuma DJ, Sorrell MF. Effects of acetaldehyde on hepatic proteins. *Prog Liv Dis* 1990; 9:325-333

Kamimoto T, Shoji S, Hidvegi T, Mizushima N, Umebayashi K, Perlmutter DH, Yoshimori T. Intracellular inclusions containing mutant alpha1-antitrypsin Z are propagated in the absence of autophagic activity. *J Biol Chem* 2006; 281: 4467-4476

Khoruts A, Stahnke L, McClain CJ, Logan G, Allen JJ. Circulating tumor necrosis factor, interleukin-1 and interleukin-6 concentrations in chronic alcoholic patients. *Hepatology* 1991; 13: 267-276

Klinge O. Alkoholtoxische Lebererkrankungen. In: Doerr, Seifert G: *Spezielle pathologische Anatomie Bd. 10, Pathologie der Leber und Gallenwege*. Berlin-Heidelberg: Springer, 2000: 700-742

Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, Wollmann J. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981; 1: 431-435

Koop DR, Morgan ET, Tarr GE, Coon MJ. Purification and characterization of a unique isoenzyme of cytochrome P-450 from liver microsomes of ethanol-treated rabbits. *J Biol Chem* 1982; 257: 8472-8480

Ku NO, Wright TL, Terrault NA, Gish R, Omary MB. Mutation of human keratin 18 in association with cryptogenic cirrhosis. *J Clin Invest* 1997; 99: 19-23

Kumar M, Sarin SK. Is cirrhosis of the liver reversible? *Indian J Pediatr* 2007; 74 : 393-399

Ku NO, Omary MB. Keratins turnover by ubiquitination in a phosphorylation-modulated fashion. *J Cell Biol* 2000; 149: 547-552

Kuntz E, Kuntz H-D. Alcohol-induced liver damage. In: Kuntz E, Kuntz H-D, Hrsg. *Hepatology Principles and Practice*. Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2006: 527-533

Lalor PF, Faint J, Aarbodem Y, Hubscher SG, Adams DH. The role of cytokines and chemokines in the development of steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2007; 27: 173-193

Lang CH, Frost RA, Kumar V, Wu D, Vary TC. Impaired protein synthesis induced by acute alcohol intoxication is associated with changes in eIF4E in muscle and eIF2B in liver. *Alcohol Clin Exp Res* 2000; 24: 322-331

Larsson C. Natural history and life expectancy in severe alpha1-antitrypsin deficiency, PiZ. *Acta Med Scand* 1978, 204: 345-351

Lee C, Maeng JS, Kocher JP, Lee B, Yu MH. Cavities of α 1-antitrypsin that play structural and functional roles. *Protein Sci* 2001; 10: 1446-1453

Lee FI. Cirrhosis and hepatoma in alcoholics. *Gut* 1966; 7: 77-85

Le Sage GD, Baldus WP, Fairbanks VF, Baggenstoss AH, McCall JT, Moore SB, Taswell HF, Gordon H. Hemachromatosis: genetic or alcohol-induced? *Gastroenterology* 1983; 84: 1471-1477

Levine SM, Anzueto A, Peters JI, Cronin T, Sako EY, Jenkinson SG, Bryan CL. Medium term functional results of single-lung transplantation for endstage obstructive lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994; 150: 398-402

Lieber CS. Biochemical Factors in Alcoholic Liver Disease. *Semin Liver Dis* 1993; 13: 136-153

Lieber CS, DeCarli LM. Hepatic Microsomal ethanol oxidizing system: in vitro characteristics and adaptive properties in vivo. *J Biol Chem* 1970; 245: 2505-2512

Lieber CS. Pathogenesis of alcoholic liver injury. *Leber Magen Darm* 1979; 9: 157-170

Lin L, Schmidt B, Teckman J, Perlmutter DH. A naturally occurring non-polymerogenic mutant of α 1-antitrypsin characterized by prolonged retention in the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 2001; 276: 33893-33898

Löffler G. Toxische Leberzellschädigung. In: Löffler G, Petrides PE, Hrsg. *Biochemie und Pathobiochemie*. Berlin – Heidelberg – New York: Springer, 1998: 1036-1037

Mackinnon AM, Plummer JL, Ilsley AH, Clayton M, Ahern M, Cmielewski P, Hall P de la M. Iron overload facilitates hepatic fibrosis in the alcohol `low-dose` carbon tetrachloride rat model. *Hepatology* 1995; 21: 1083-1088

MacSween RNM. Mallory's (alcoholic) hyaline in primary biliary cirrhosis. *J Clin Pathol* 1973; 26: 340-342

Maeda S, Kamata H, Luo JL, Leffert H, Karin M. IKK β couples hepatocyte death to cytokine-driven compensatory proliferation that promotes chemical hepatocarcinogenesis. *Cell* 2005; 121: 977-990

- Mahadeva R, Atkinson C, Li Z, Stewart S, Janciauskiene S, Kelley DG, Parmar J, Pitman R, Shapiro SD, Lomas DA. Polymers of Z-alpha1-antitrypsin co-localize with neutrophils in emphysematous alveoli and are chemotactic in vivo. *Am J Pathol* 2005; 166: 377-386
- Matsuda Y, Takada A, Sato H, Yasuhara M, Takase S. Comparison between ballooned hepatocytes occurring in human alcoholic and nonalcoholic liver diseases. *Alcohol Clin Exp Res* 1985; 9: 366-370
- McClain CJ, Cohen DA. Increased tumour necrosis factor production by monocytes in alcoholic hepatitis. *Hepatology* 1989; 9: 349-351
- McClain CJ, Song Z, Barve SS, Hill DB, Deaciuc I. Recent advances in alcoholic liver disease. IV. Dysregulated cytokine metabolism in alcoholic liver disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G497-502
- Mishra L, Sharma S, Potter JJ, Mezey E. More rapid elimination of alcohol in women as compared to their male siblings. *Alcohol Clin Exp Res* 1989; 13: 752-754
- Miyakawa H, Iida S, Leo MA, Greenstein RJ, Zimmon DS, Lieber CS. Pathogenesis of precirrhotic portal hypertension in alcohol-fed baboons. *Gastroenterology* 1985; 88: 143-150
- Mulgrew AT, Taggart CC, Lawless MW, Greene CM, Brantly ML, O'Neill SJ, McElvaney NG. Z α 1-antitrypsin polymerizes in the lung and acts as a neutrophil chemoattractant. *Chest* 2004; 125: 1952-1957
- Norman MR, Mowat AP, Hutchison DCS. Molecular basis, clinical consequences and diagnosis of alpha-1-antitrypsin deficiency. *Ann Clin Biochem* 1997; 34: 230-246
- Ohta M, Marceau N, Perry G, Manetto V, Gambetti P, Autilio-Gambetto L, Metzals J, Kawahara H, Cadrin M, French SW. Ubiquitin is present on the cytokeratin intermediate filaments and Mallory bodies of hepatocytes. *Lab Invest* 1988; 59: 848-856
- Okanoue T, Ohta M, Ou O, Kachi K, Kagawa K, Yuki T, Okuno T, Takino T, French SW. Relationship of Mallory bodies to intermediate filaments in hepatocytes. A scanning electron microscopy study. *Lab Invest* 1985; 53: 534-540
- Perlmutter DH. Alpha-1-Antitrypsin Deficiency. *Sem in Liver Disease* 1998; 18:217-225
- Perlmutter DH, Brodsky JL, Balistreri WF, Trapnell BC. Molecular pathogenesis of alpha-1-antitrypsin deficiency-associated liver disease: a meeting review. *Hepatology* 2007; 45: 1313-1323
- Perlmutter DH. Liver injury in α -1antitrypsin deficiency: an aggregated protein induces mitochondrial injury. *J Clin Invest* 2002; 110: 1579-1583
- Perlmutter DH, May LT, Sehgal PB. Interferon β 2/interleukin 6 modulates synthesis of α 1-antitrypsin in human mononuclear phagocytes and in human hepatoma cells. *J Clin Invest* 1989; 84:138-144

Peters M, Liebman HA, Tong MJ, Tinberg HM. Alcoholic hepatitis: granulocyte chemotactic factor from Mallory body-stimulated human peripheral blood mononuclear cells. *Clin Immunol Immunopathol* 1983; 28: 418-430

Powell LW, Fletcher LM, Halliday JW. Distinction between haemochromatosis and alcoholic siderosis. In: Hall P de la M, ed. *Alcoholic liver disease*, 2nd edn. London: Edward Arnold 1995; 199-216

Ramm GA, Ruddell RG. Hepatotoxicity of iron overload: mechanisms of iron-induced hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 2005; 25: 433-449

Ray MB. Distribution patterns of cytokeratin antigen determinants in alcoholic and nonalcoholic liver diseases. *Hum Pathol* 1987; 18: 61-66

Riley NE, Li J, McPhaul LW, Bardag-Gorce F, Lue YH, French SW. Heat shock proteins are present in mallory bodies (cytokeratin aggresomes) in human liver biopsy specimens. *Exp Mol Pathol* 2003; 74: 168-172

Rudnick DA, Perlmutter DH. Alpha-1-Antitrypsin deficiency: A new paradigm for hepatocellular carcinoma in genetic liver disease. *Hepatology* 2005; 42: 514-521

Sandhaus RA. α 1-Antitrypsin deficiency 6: New and emerging treatments for α 1-Antitrypsin deficiency. *Thorax* 2004; 59: 904-909

Scheuer PJ, Lefkowitz JH. Steatosis and steatohepatitis. In: Scheuer PJ, Lefkowitz JH, Hrsg. *Liver Biopsy Interpretation*: Elsevier Saunders, 2005: 105-123

Shamamian P, Schwartz JD, Pocock BJ, Monea S, Whiting D, Marcus SG, Mignatti P. Activation of progelatinase A (MMP-2) by neutrophil elastase, cathepsin G, and proteinase-3: a role for inflammatory cells in tumor invasion and angiogenesis. *J Cell Physiol* 2001; 189: 197-206

Sheron N, Bird G, Goka G, Alexander G, Williams R. Elevated plasma interleukin-6 and increased severity and mortality in alcoholic hepatitis. *Clin Exp Immunol* 1991; 84: 449-453

Sidhar SK, Lomas DA, Carrell RW, Foreman RC. Mutations which impede loop-sheet polymerization enhance the secretion of human α 1-antitrypsin deficiency variants. *J Biol Chem* 1995; 270: 8393-8396

Sternlieb I. Evolution of hepatic lesion in Wilson's disease (hepatolenticular degeneration). In: Popper H, Schaffner F, eds. *Progress in liver diseases*, vol IV. New York: Grune & Stratton, 1972: 511-525

Stoller JK, Aboussouan LS. Alpha1-antitrypsin deficiency. *Lancet* 2005; 365: 2225-2236

Sun Z, Yang P. Role of imbalance between neutrophil elastase and α 1-antitrypsin in cancer development and progression. *Lancet Oncol* 2004; 5: 182-190

Sveger T. Prospective study of children with α 1-antitrypsin deficiency: eight-year-old follow-up. *J Pediatr* 1984; 104: 91-94

- Tattersall SF, Pereira RP, Hunter D, Blundell G, Pride NB. Lung distensibility and airway function in intermediate alpha1-antitrypsin deficiency (Pi MZ). *Thorax* 1979; 34: 637-646
- Teckman JH, An JK, Blomenkamp K, Schmidt B, Perlmutter DH. Mitochondrial autophagy and injury in the liver of α 1-antitrypsin deficiency. *Am J Physiol* 2004; 286: G851-G862
- Teckman JH, Qu D, Perlmutter DH. Molecular pathogenesis of liver disease in alpha1-antitrypsin deficiency. *Hepatology* 1996; 24: 1504-1516
- Thurman RG. Alcoholic liver injury involves activation of Kupffer cells by endotoxin. *Am J Physiol* 1998; 275: G605-G611
- Tobin MJ, Cook PJL, Hutchison DCS. Alpha1-antitrypsin deficiency: the clinical and physiological features of pulmonary emphysema in subjects homozygous for Pi type Z. A survey by the British thoracic association. *Br J Dis Chest* 1983; 77: 14-27
- Verbanac KM, Heath EC. Biosynthesis, processing and secretion of M and Z variant human α 1-antitrypsin. *J Biol Chem* 1986; 261: 9979-9989
- Vogelmeier C, Kirlath I, Warrington S, Banik N, Ulbrich E, Du Bois RM. The intrapulmonary half-life and safety of aerosolized alpha1-protease inhibitor in normal volunteers. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155(2): 536-541
- Vyberg M, Leth P. Ubiquitin: an immunohistochemical marker of Mallory bodies and alcoholic liver disease. *APMIS (suppl)* 1991; 23: 46-52
- Wallmark A, Alm R, Eriksson S. Monoclonal antibody specific for the mutant PiZ alpha 1-antitrypsin and its application in an ELISA procedure for identification of PIZ gene carriers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 5690-5693
- Weirich G, Hornauer MA, Bruning T, Hofler H, Brauch H. Fixed archival tissue. Purify DNA and primers for good PCR yield. *Mol Biotechnol* 1997; 8: 299-301
- WHO meeting. Alpha1-antitrypsin deficiency: Memorandum from a WHO meeting. *Bull World Health Organ* 1997; 75: 397-415
- Wu D, Cederbaum AI. Oxidative stress mediated toxicity exerted by ethanol-inducible CYP2E1. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; 207: 70-76
- Yang P, Cunningham JM, Halling KC, Lesnick TG, Burgart LJ, Wiegert EM, Christensen ER, Lindor NM, Katzmann JA, Thibodeau SN. Higher risk of mismatch repair-deficient colorectal cancer in alpha1-antitrypsin carriers and cigarette smokers. *Mol Genet Metab* 2000; 71: 639-645
- Yang P, Sun Z, Krowka MJ, Aubry MC, Bamlet WR, Wampfler JA, Thibodeau SN, Katzmann JA, Allen MS, Midthun DE, Marks RS, de Andrade M. Alpha1-antitrypsin deficiency carriers, tobacco smoke, chronic obstructive pulmonary disease, and lung cancer risk. *Arch Intern Med*. 2008; 168: 1097-1103

8 Danksagung

Für die Bereitstellung und Betreuung dieser Doktorarbeit bedanke ich mich herzlich bei Herrn Prof. Fischer. Ich bin sehr dankbar für seine zahlreichen Anregungen, seine Unterstützung und die Zeit, die er in diese Arbeit investiert hat.

Ohne die Mitarbeiterinnen des immunhistochemischen Labors des Instituts für Pathologie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Mein Dank gilt an dieser Stelle Frau Esch, Frau Reddemann und Frau Steiner. Ganz besonders möchte ich mich bei Frau Esch bedanken, die unzählige immunhistochemische Färbungen für mich anfertigte und mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand.

Weiterhin danke ich Frau Stedele, die mir großzügig die Unterlagen ihrer Doktorarbeit zur Verfügung stellte und bei Fragen und Schwierigkeiten stets ein offenes Ohr für mich hatte. Ihre Erfahrungen und Tipps haben mir sehr geholfen.

Für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung danke ich Herrn Höller vom Institut für Medizinische Biometrie, Informatik und Epidemiologie der Universität Bonn.

Die Erstellung der histologischen Abbildungen verdanke ich Herrn Klemm und seinen Mitarbeitern vom Photolabor des Instituts für Pathologie.

Zuletzt möchte ich ganz besonders meinen Eltern Susanne und Richard Vössing danken. Ohne ihre Unterstützung wäre weder mein Studium noch die Umsetzung meiner Doktorarbeit möglich gewesen.

Yang P, Wentzlaff KA, Katzmann JA, Marks RS, Allen MS, Lesnick TG, Lindor NM, Myers JL, Wiegert E, Midthun DE, Thibodeau SN, Krowka MJ. Alpha1-antitrypsin deficiency allele carriers among lung cancer patients. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8: 461-465

Yao J, Baecher-Allan CM, Sharon J. Serpins identified as cell growth inhibitors in human plasma. *Mol Cell Biol Res Commun* 2000; 3: 76-81

Yoshioka K, Kakumu S, Tahara H. Occurrence of immunohistochemically detected small Mallory bodies in liver disease. *Am J Gastroenterol* 1989; 84: 535-539

Zatloukal K, Stumptner C, Fuchsbichler A, Heid H, Schnoelzer M, Kenner L, Kleinert R, Prinz M, Aguzzi A, Denk H. p62 Is a Common Component of Cytoplasmic Inclusions in Protein Aggregation Diseases. *Am J Pathol* 2002; 160: 255–263

Zatloukal K, Stumptner C, Lehner M, Denk H, Baribault H, Eshkind LG, Franke WW. Cytokeratin 8 protects from hepatotoxicity, and its ratio to cytokeratin 18 determines the ability of hepatocytes to form Mallory bodies. *Am J Pathol* 2000; 156: 1263-1274

Zelvyte I, Lindgren S, Janciauskiene S. Multiple effects of α 1-antitrypsin on breast carcinoma MDA-MB 468 cell growth and invasiveness. *Eur J Cancer Prev* 2003; 12: 117-124

Zhou H, Fischer HP. Leberveränderungen bei heterozygotem α 1-Antitrypsin-Mangel PiZ. *Pathologie* 2000; 21: 433-440

Zhou H, Ortiz-Palladró ME, Ko Y, Fischer HP. Is Heterozygous Alpha-1-Antitrypsin Deficiency Type PiZ a Risk Factor for Primary Liver Carcinoma? *Cancer* 2000; 88: 2668-2676

Zhou H. Pathologie und Prävalenz von Leberkarzinomen und nichttumorösen Lebererkrankungen bei alpha-1-Antitrypsinmangel Typ PiZ. Universität Bonn, Medizinische Fakultät, Habilitationsschrift 2000